Felix Hoppe-Seyler's Handbuch

der

Physiologisch- und Pathologisch-

CHEMISCHEN ANALYSE

für

Aerzte und Studirende.

Bearbeitet von

Dr. H. Thierfelder,

a. o. Professor und Vorsteher der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts
der Universität Berlin.



Siebente Auflage.

Mit 18 Textfiguren und 1 Spectraltafel.

Berlin 1903.

Verlag von August Hirschwald.

NW. Unter den Linden 68.

Vorwort.

Die erste Auflage des Handbuches der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse liess F. Hoppe-Seyler im Jahre 1858 erscheinen. Es war ein kleines Buch in Taschenformat von kaum 300 Seiten. Die weiteren Auflagen folgten in den Jahren 1865, 1870, 1875, 1883 und 1893, jede neue die vorangehende an Inhalt und Umfang übertreffend.

Wohl wissend, dass der Fortschritt der Wissenschaft in erster Linie auf zuverlässigen und genauen Arbeitsmethoden beruht, hat Hoppe-Seyler der Ausbildung und Verbesserung dieser Methoden stets sein besonderes Interesse zugewendet. Eine grosse Anzahl von Untersuchungsverfahren sind von ihm ausgearbeitet worden, die von Anderen empfohlenen hat er kritisch geprüft. Jede neue Auflage seines Handbuches brachte das von ihm auf Grund sorgfältiger experimenteller Untersuchung zur Zeit als das beste Erkannte. So bietet das Buch in seinen einzelnen Auflagen ein Bild der Entwicklung der physiologisch-chemischen Methodik während eines Menschenalters.

Zwei Generationen haben an der Hand des Hoppe-Seyler'schen Buches physiologisch-chemisch arbeiten gelernt, für Viele ist es ein sicherer Rathgeber bei eigenen Untersuchungen gewesen. Indem es so belehrend und fördernd wirkte, hat es nicht nur der Verbreitung wissenschaftlicher Kenntnisse, sondern auch in reichem Maasse dem Fortschritt der Wissenschaft selbst gedient.

Als nach dem Tode von F. Hoppe-Seyler das Werk nahezu vergriffen war, forderte die Verlagsbuchhandlung mich auf, eine Neubearbeitung zu übernehmen. Sie wandte sich an mich, weil ich schon bei der Herausgabe der letzten Auflage betheiligt war. Im Einverständniss mit der Familie Hoppe-Seyler habe ich der Aufforderung Folge geleistet. Was mich bestimmte, eine so grosse und verantwortungsvolle Aufgabe zu übernehmen, war einmal der begreifliche Wunsch, den Namen Hoppe-Seyler's auch durch dieses Werk lebendig zu erhalten, und dann die Befürchtung, dass mit dem Verschwinden des Handbuches aus dem Buchhandel eine Summe von Erfahrungen und Beobachtungen, die von dem grossen Forscher während eines langen Lebens gesammelt und zum Theil nur an dieser Stelle veröffentlicht worden waren, für die Wissenschaft verloren gehen könne.

Die Erinnerung an Felix Hoppe-Seyler hat mich bei der Arbeit begleitet. Möchte es mir gelungen sein, diese Arbeit im Sinne meines Lehrers und väterlichen Freundes ausgeführt zu haben. —

Die Anordnung des Buches ist im Allgemeinen dieselbe geblieben. Die Ausführungen über wichtigere chemische Operationen, welche in den früheren Auflagen vorhanden, erst in der letzten fortgelassen worden waren, habe ich in etwas veränderter Form wieder aufgenommen und durch einige Paragraphen über Maassanalyse vervollständigt. Sie bilden zusammen mit den Abschnitten, die von den physikalischen Methoden handeln, die erste Abtheilung. Die zweite und dritte Abtheilung entsprechen der ersten und zweiten der letzten Auflage. Diese beiden Abtheilungen haben eine völlige Durch- und Umarbeitung erfahren. Der leitende Gesichtspunkt dabei war, durch eine möglichst streng systematische Eintheilung die Uebersichtlichkeit des Ganzen und die Auffindbarkeit des Einzelnen zu erleichtern. Die Einführung von Randdrucken soll demselben Zweck dienen. Der Anhang ist durch Angaben über die Herstellung einiger häufiger gebrauchter Reagentien sowie durch Tabellen über das specifische Gewicht von Alkalien, Säuren und Alkohol vermehrt worden. In einem zweiten Anhange habe ich unter Anlehnung und Bezugnahme auf die Paragraphen des Buches „Physiologisch-chemische Untersuchungsmethoden für Uebungszwecke" zusammengestellt. Sie entsprechen in Auswahl und Aufeinanderfolge im Wesentlichen dem Gange, nach dem Hoppe-Seyler in seinem Laboratorium arbeiten liess und den er auch als Manuskript hat drucken lassen.

Die Literatur wurde nach Möglichkeit bis zuletzt berücksichtigt, doch ist dabei zu bemerken, dass der Druck sich über nahezu ein Jahr hingezogen hat. Manche Arbeiten, z. B. die von E. Ziemke und Fr. Müller, Beiträge zur Spectroskopie des Blutes (Arch. f. Anat. u. Physiol., Physiol. Abth. 1901, Suppl.-Band S. 177) kamen erst zu meiner Kenntniss, als es nicht mehr möglich war, sie zu berücksichtigen Einige Nachträge sind zusammen mit Berichtigungen auf S. 585 und S. 586 aufgeführt.

Die Literaturcitate sind, wenigstens was die neueren Arbeiten betrifft, möglichst vollständig angegeben worden, um dem Leser das Zurückgehen auf das Original zu erleichtern. Methoden und Einzelangaben, bei denen der Name des Autors und die Literaturstelle fehlen, stammen meist von F. Hoppe-Seyler.

Obgleich das Format dieser Auflage ein etwas grösseres ist, als das der vorigen, liess sich doch eine Vergrösserung des Buches um einige Bogen nicht vermeiden.

Zum Schluss ist es mir ein lebhaftes Bedürfniss, auch an dieser Stelle meinem Mitarbeiter an der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts, Herrn Dr. Albert Neumann, herzlichen Dank auszusprechen für die ausgezeichnete und unermüdliche Hülfe, die er mir während der Arbeit geleistet hat, und für die Fülle werthvoller Rathschläge, deren ich mich von seiner Seite zu erfreuen hatte.

Berlin, October 1902.

H. Thierfelder.

Inhaltsübersicht.

I. Wichtigere chemische und physikalische Methoden.

II. Vorkommen, Darstellung, Eigenschaften und Nachweis der bis jetzt aus dem Thierkörper gewonnenen Stoffe.

1. Anorganische Stoffe.

2. Organische Stoffe.

Proteïnkörper.

Untersuchung der Muskeln.

Bestandtheile (§ 723).

Untersuchung (§§ 724—739).

Nachweise:
anorganische Salze (§ 724) — Proteïnstoffe (§ 725) — ätherlösliche Substanzen, Harnstoff, Milchsäure, flüchtige Fettsäuren, Inosit (§ 726) — Kreatin, Nucleïnbasen (§ 727) — Kreatinin, Milchsäure, Taurin (§ 728) — Inosit (§ 729) — Glykogen, Milchsäure, Zucker (§ 730) — gebundene Pentose (§ 731).

Quantitative Bestimmungen:
Trockenrückstand, Gesammtstickstoff, einzelne anorganische Bestandtheile, Ammoniak (§ 732) — anorganische Salze (§ 733) — Nucleïnbasen (§ 734) — ätherlösliche Substanzen (§ 735) — Glykogen (§§ 736 u. 737) — Proteïdphosphorsäure (§ 738) — Proteïnstoffe, anorganische Salze, ätherlösliche Stoffe (§ 739).

Untersuchung der drüsigen Organe.

Bestandtheile und Untersuchung (§§ 740—744).

Bestandtheile (§ 740) — Untersuchung (§§ 741—743) — Bestimmung der Harnsäure (§ 744).

Untersuchung des Gehirns, des Rückenmarks und der Nerven.

Bestandtheile (§ 745).

Untersuchung (§§ 746—751).

Nachweise:
anorganische Salze (§ 746) — wasserlösliche Substanzen (§ 747) — specifische Gehirnstoffe (§ 748) — ätherlösliche Stoffe (§ 749) — Neurokeratin (§ 750).

Quantitative Bestimmungen:
Trockenrückstand, Gesammtstickstoff, anorganische Bestandtheile, anorganische Salze, Galactose, Cholesterin, Neurokeratin (§ 751).

Untersuchung von Hornhaut, Linse, Glaskörper, Humor aqueus.

Bestandtheile und Untersuchung (§ 772).

Berichtigungen und Nachträge.

Anhang I.

Einige Reagentien.

Almén'sche Lösung — Brücke's Reagens — Glyoxylsäurelösung — Magnesiamischung — Millon's Reagens — Molybdaensaures Ammoniak — Nessler's Reagens — Posphorwolframsäure — Stokes'sche Lösung.

Tabelle der Atomgewichte und Verhältnisszahlen für Analysenberechnung.

Tabelle der specifischen Gewichte.

Ammoniak — Kalilauge — Natronlauge — Salzsäure — Salpetersäure — Alkohol.

Tabelle des Volumens und der Dichte des Wassers.

Tabelle zur Traubenzuckerbestimmung nach Pflüger-Volhard.

Tabelle zur Fettbestimmung nach Soxhlet.

Anhang II.

Zusammenstellung physiologisch-chemischer Untersuchungsmethoden für Uebungszwecke.

I. ABTHEILUNG.

Wichtigere chemische und physikalische Methoden.

---

1. Allgemeine chemische Operationen.

1. Die am Häufigsten bei qualitativen physiologisch-chemischen Untersuchungen zur Anwendung kommenden Operationen sind Kochen und Abdampfen, Trennung der Substanzen, Auswaschen von Niederschlägen, Trocknen und Glühen. Auch diese einfachen Proceduren erfordern Uebung und Aufmerksamkeit und es ist von der richtigen Ausführung derselben das Gelingen selbst einfacher Untersuchungen abhängig. Es mögen daher zunächst über diese Operationen einige praktische Bemerkungen hier Platz finden, die besonders das Verhalten der thierischen Stoffe bei denselben betreffen.

Kochen und Abdampfen von Flüssigkeiten.

2. Das Kochen der Flüssigkeiten geschieht in Reagenzgläsern, Kolben, Kochflaschen, Porzellanschalen, das Abdampfen wässriger Flüssigkeiten nur in letzteren. Alkoholische Flüssigkeiten können in hinreichend hochwandigen Schalen oder besser in Bechergläsern, ätherische oder Chloroformlösungen nur in letzteren ohne Verlust verdunstet werden. Zum Abdampfen kleiner Mengen wässriger Flüssigkeiten sind Uhrschalen sehr geeignet. Alkoholische Lösungen dürfen nur auf dem Wasserbade, nie direct über der Flamme, ätherische nur auf dem vorher erwärmten Wasserbade nach Löschen der Flamme verdunstet werden, da sich ihr Dampf an der Flamme leicht entzündet.

Viele Flüssigkeiten, besonders zuckerhaltige, bräunen sich beim Kochen und Abdampfen bei hoher Temperatur, besonders über freiem Feuer. Man dampft sie am Besten bei einer Temperatur von 70—80°, entweder direct über kleiner Flamme oder im Wasserbade ein, indem man durch fleissiges Umrühren die Verdunstung des Wassers beschleunigt. Ziemlich verdünnte Flüssigkeiten, z. B. Harne, verdampft man am Besten zunächst über freiem Feuer bei mässigem Sieden und setzt, wenn sie concentrirter geworden sind, das Abdampfen auf dem Wasserbade fort.

Durch gutes Umrühren vermeidet man auch möglichst das heftige Stossen und Spritzen, welches leicht eintritt, wenn sich schwere Niederschläge aus den kochenden Flüssigkeiten absetzen, z. B. beim Eindampfen bereits concentrirter Harne oder Salzlösungen über freiem Feuer.

Eiweisshaltige Flüssigkeiten sind langsam unter gutem Umschütteln oder Umrühren mit einem Glasstabe zum Kochen zu erhitzen. Selbst im Probirröhrchen tritt wegen schlechter Wärmeleitung der Eiweisscoagula leicht Bräunung eiweissreicher Flüssigkeiten ein, wenn man nicht durch Umdrehen und Schütteln die Erhitzung möglichst gleichmässig auf die ganze Flüssigkeit wirken lässt.

Zu heftige plötzliche Erhitzung durch eine heisse Flamme an einer Stelle zersprengt nicht allein fast immer die Gefässe, sondern verdirbt auch sicher die ganze Flüssigkeit, wenn sie eiweissreich ist. Will man die Braunfärbung beim Kochen eiweissreicher Flüssigkeiten sicher vermeiden, so trägt man diese in kleinen Portionen unter gutem Umrühren in bereits siedendes Wasser ein.

Wässrige oder alkoholische Flüssigkeiten, welche bei höherer Temperatur Zersetzung befürchten lassen, dampft man bei gewöhnlicher Temperatur oder mässiger Wärme im Vacuum ein.

Trennungsmethoden.

Die Trennung der Substanzen kann man bewirken durch Destilliren, Extrahiren, Dialysiren, Centrifugiren und Filtriren. Die letztere Art der Trennung ist die am häufigsten benutzte.

3. **Destilliren.** Die Destillation dient dazu, flüchtige Stoffe von nicht flüchtigen zu trennen. Nach ihrer Verdichtung in dem mit dem Destillirkolben verbundenen Liebig'schen Kühler sammeln sich die flüchtigen Substanzen in der Vorlage, während die nicht flüchtigen im Destillirkolben zurückbleiben. Körper, die bei ihrer Siedetemperatur oder schon unterhalb derselben sich zersetzen, destillirt man unter vermindertem Druck oder im Vacuum. Die Destillation wird wesentlich erleichtert und beschleunigt durch Einleiten von Wasserdampf in die zu destillirende Flüssigkeit. Viele Substanzen, deren Siedepunkt weit über 100° liegt, gehen unter diesen Umständen, auch schon beim Destilliren ihrer wässerigen Lösungen leicht mit den Wasserdämpfen über, z. B. fette Säuren, Phenole, Indol.

4. **Extrahiren.** Das Extrahiren einer festen Masse durch eine Flüssigkeit gelingt nur dann schnell und vollständig, wenn die Masse in hinreichend fein vertheiltem Zustande der extrahirenden Flüssigkeit dargeboten wird. Sind die zu extrahirenden Körper pulverisirbar, so verwandelt man sie vor dem Aufgiessen der Flüssigkeit in ein möglichst feines Pulver; sind sie nicht pulverisirbar, so bringt man sie, wenn sie breiige, schleimige oder harzige Consistenz haben, wenn möglich erst in concentrirte, wässrige oder alkoholische Lösung und übergiesst nun unter gutem Umrühren mit der

extrahirenden Flüssigkeit und verwandelt somit die Extraction in eine Fällung der nicht löslichen Substanzen. Um thierische Organe zu extrahiren, z. B. Muskeln, zerkleinert man sie vorher durch Zerreiben mit Glasstücken oder durch eine Fleischhackmaschine. Alle eiweisshaltigen Substanzen extrahirt man mit Wasser am Besten unter der Coagulationstemperatur der Albuminstoffe und entfernt dann im Extracte das Eiweiss durch Aufkochen.

Zur Trennung der Fette u. s. w. von anderen Stoffen durch Extraction ersterer mittelst Aether oder Chloroform eignen sich im Ganzen wässrige Lösungen oder Emulsionen besser als die festen Verdampfungsrückstände dieser Flüssigkeiten. Man schüttelt die Lösungen mit Aether oder Chloroform, lässt dann einige Zeit stehen und trennt die Flüssigkeiten durch Abgiessen. Ist die Aether- oder Chloroformlösung dann noch trübe, schleimig und trennen sich die Flüssigkeiten schlecht, so fügt man Alkohol unter Umschütteln hinzu, bis die Flüssigkeiten sich trennen und klären, scheidet sie im Scheidetrichter und wäscht mehrmals die Aether- oder Chloroformlösung mit Wasser zur Entfernung des Alkohols. Zur quantitativen Extraction von Fett u. s. w. aus pulverigen Substanzen mit Aether oder Chloroform benutzt man den Soxhlet'schen Extractionsapparat, welcher eine völlige Erschöpfung der Masse unter Benutzung von kleinen Aethermengen gestattet und selbstthätig arbeitet.

5. **Dialysiren.** Seitdem man in dem vegetabilischen Pergament einen der Fäulniss und der Veränderung durch die gewöhnlichsten Agentien nicht ausgesetzten zu endosmotischen Versuchen sehr gut geeigneten Stoff besitzt, hat man mehrfach die endosmotischen Vorgänge zur Trennung von Substanzen empfohlen, welche mit verschiedener Geschwindigkeit oder gar nicht durch die Poren dieses Pergamentes sich ergiessen können. Einige Stoffe, wie arabisches Gummi und Albuminstoffe sind der Diffusion kaum fähig, bringt man sie in concentrirter Lösung in eine Flasche, deren Boden abgesprengt und durch ein wasserdicht übergebundenes Stück vegetabilisches Pergament ersetzt ist, und setzt die so gefüllte Flasche in eine Schale mit destillirtem Wasser, so gehen kaum bemerkbare Spuren dieser Stoffe durch die Membran in das Wasser über. Enthält die Eiweiss- oder Gummilösung dagegen Salze oder im Allgemeinen der Diffusion fähige Substanzen, so treten diese, falls sie nicht vom Gummi oder Eiweiss durch chemische Affinität festgehalten sind, so lange in das Wasser über, bis die Concentration der äusseren wässrigen Lösung der der innern für diese Substanzen nahezu gleich geworden ist. Wenn man nun sonach im Stande ist, diffusible Körper (Krystalloïde nach Graham) von nicht diffusiblen (Colloïde, Graham) zu trennen, indem man die Mischungen beider in obiger Weise mit Wasser diffundiren lässt, nach einigen Stunden das Wasser aussen in der Schale durch neues ersetzt, nach wieder einigen Stunden abermals wechselt, so können bedeutende Quantitäten der diffusiblen Sub-

stanzen aus der ursprünglichen Mischung entfernt und durch Verdunsten u. s. w. der äusseren wässrigen Lösungen für sich gewonnen werden. Man gelangt nun zwar auch bei möglichster Begünstigung schneller Diffusion nie dahin, die Salze u. s. w. völlig von Gummi, Schleim, Albuminstoffen u. dergl. zu trennen, doch werden sie wesentlich gereinigt und die Salze so wie andere diffusible Körper frei von Gummi, Eiweiss u. s. w. erhalten. Graham, welcher diese Scheidungsmethode zuerst in umfassender Weise angewendet hat, nennt dieselbe Scheidung durch Dialyse[1]). Um recht schnelle Diffusion zu bewirken, ist es zweckmässig 1. die Diffusionsfläche, d. h. die Membran, durch welche die Diffusion stattfindet, recht gross zu nehmen, 2. die Temperatur etwas zu erhöhen, 3. die Flüssigkeit in der Flasche öfters mässig zu schütteln und 4. das Aussenwasser häufig zu erneuern, event. wenn es nur darauf ankommt die diffusiblen Stoffe zu entfernen, es sich beständig erneuern zu lassen. Da der Strom sich immer mehr verlangsamt, je mehr die diffusiblen Substanzen in der Flasche abnehmen, thut man gut, nach einiger Zeit den Inhalt der Flasche etwas einzudampfen und nun weiter der Dialyse zu unterwerfen.

Sehr zweckmässig sind die von Kühne empfohlenen Pergamentschläuche, welche mit der zu dialysirenden Flüssigkeit gefüllt, in hohe mit Wasser, event. mit fliessendem Wasser gefüllte Cylinder Uförmig aufgehängt werden. Die Diffusionsfläche wird auf diese Weise sehr vergrössert.

Ein Apparat, bei dem die Dialyse durch ein fortwährendes Mischen der zu dialysirenden Flüssigkeit mittelst eines Rührers begünstigt wird, ist von Siegfried[2]) angegeben.

6. **Centrifugiren.** Die Trennung von körperlichen Elementen, z. B. Niederschlägen, Blutkörperchen, im Harn suspendirten Bestandtheilen u. s. w., geschieht oft sehr zweckmässig mit Hülfe der Centrifuge. An Stelle der bisher allgemein gebräuchlichen cylindrischen Centrifugirgefässe sind kürzlich von A. Kossel[3]) flache, in der Nähe der Peripherie angeordnete Gefässe empfohlen, die z. B. für die Abtrennung rother Blutkörperchen grosse Vortheile gewähren.

7. **Filtriren.** Die Trennung der Flüssigkeiten von Niederschlägen erfolgt meist mittelst Filtration durch ungeleimtes Papier. Will man letzteres als leicht zerstörbaren organischen Körper vermeiden, so bringt man einen in der Flamme vorher zum Glühen erhitzten Asbestpfropf in die Spitze eines Glastrichters und stopft ihn hier nicht zu fest vor die Oeffnung der Röhre des Trichters; sehr feinkörnige Niederschläge werden vom Asbestpfropf gut zurückgehalten. Das Filtriren durch Leinwand (Koliren) dient entweder zur ersten gröberen Scheidung massiger, schwerer, grobkörniger

---

1) Annal. Chem. Pharm. **121**. 1. (1862).
2) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **31**. 1825. (1898).
3) Zeitschr. f. physiol. Chem. **33**. 1. (1901).

Niederschläge von den Flüssigkeiten, oder man zieht es in Anwendung bei Filtration schleimiger Flüssigkeiten, welche Papierfiltra schnell verstopfen würden (z. B. Trennung des geschlagenen Faserstoffs vom Blute). Dem Filtriren durch Leinwand kann man fast stets ein Auspressen des Niederschlags im Leinwandbeutel mit der Hand oder einer Presse folgen lassen. Um starkes Pressen anwenden zu können, bedient man sich als Einhüllung des zu pressenden Breis am Besten des aus Wolle gewobenen Oelpresstuches. Zum Auspressen von gehacktem Fleisch eignet sich besonders ein sehr starkes Netz oder Gewebe aus Hanffäden.

Die Papierfilter sollen ein wenig kleiner sein als die Glastrichter, für welche sie bestimmt sind; nie darf das Filter über den Rand des Trichters herausragen, da sonst völliges Auswaschen unmöglich wird. Es ist meist zweckmässig, das Filter zu befeuchten und an die Wandung des Trichters überall anzulegen, ehe man die zu filtrirende Flüssigkeit aufgiesst. Sehr grosse Filter, durch welche wässrige Flüssigkeiten filtrirt werden sollen, unterstützt man dadurch, dass man die Spitze derselben in ein zweites kleineres Filter stellt. Braucht man nur das Filtrat, so wendet man mit Vortheil Faltenfilter an, durch die die Flüssigkeit sehr viel schneller hindurchläuft. Auch die Benutzung von Rippentrichtern ist bei schlecht filtrirenden Flüssigkeiten oft sehr empfehlenswerth.

Das Aufgiessen der Flüssigkeiten ist behutsam auszuführen, damit kein Verlust durch Spritzen entsteht und nicht durch den plötzlichen Stoss das Filter zerrissen wird. Man giesst an einem senkrecht angelegten Glasstabe aus nicht zu gefülltem Gefässe hinab, so dass die Flüssigkeit am Glasstabe hinabrieselnd unter sehr stumpfem Winkel etwa die Mitte der Seitenwand des Filters trifft. Um beim Aufgiessen ein Herablaufen von Flüssigkeit an der Aussenwand des Gefässes zu vermeiden, ist es zweckmässig, an die untere Seite des umgebogenen Randes und zwar an der Stelle, an der man ausgiessen will, eine Spur Fett zu bringen.

Bedeutende Beschleunigung der Filtration erreicht man durch Anwendung der Wasserstrahlpumpe; um das Zerreissen des Filters zu vermeiden, muss es durch einen in den Trichter eingesetzten Platinconus gestützt werden. Auch die Witt'schen Filterplatten, sowie die Büchner'schen Nutschen in Verbindung mit der Wasserstrahlpumpe empfehlen sich zur Trennung von Flüssigkeiten und Niederschlägen und sind in vielen Fällen unentbehrlich. Schleimige und sehr feinvertheilte Niederschläge eignen sich nicht zur Filtration unter vermindertem Druck.

Auswaschen der Niederschläge.

8. Das Auswaschen der Niederschläge auf dem Filter geschieht mittelst der Spritzflasche. Es ist besonders darauf zu achten, dass der Strahl der Waschflüssigkeit weder zu heftig stossend wirkt, noch die Filterwand oder den Niederschlag senkrecht trifft, da sonst das Papier zerreissen und

Verspritzen der Niederschläge stattfinden kann. Man darf auch die Filter nicht zu hoch mit Flüssigkeit füllen, insbesondere ist es rathsam, genügenden Raum im Filter leer zu lassen, wenn sehr feinkörnige Niederschläge abzufiltriren sind. Im Ganzen gilt die Regel, Niederschläge zunächst sich absetzen zu lassen (was oft in der Wärme sehr viel schneller geschieht), sodann zuerst die Flüssigkeit zu filtriren und endlich den Niederschlag selbst aufs Filter zu bringen, indem man ihn mit der erforderlichen Waschflüssigkeit (meist also Wasser) oder mit etwas bereits filtrirter Flüssigkeit, die man zurückgiesst, allmälig völlig auf dem Filter sammelt. In den meisten Fällen ist es zweckmässig, erst dann von Neuem Waschflüssigkeit auf das Filter zu bringen, wenn die vorhergehende Portion bereits das Filter passirt hat, doch ist es in einzelnen Fällen besser, das Filter stets voll Flüssigkeit zu erhalten. Um das Hineinfallen von Staub und die Verdunstung in den Filterrändern zu verhüten, bedeckt man den Trichter mit einer Glasplatte.

Sehr massige feinkörnige oder gelatinöse Niederschläge werden auf dem Filter nur sehr schwer vollkommen ausgewaschen. Hier ist es zweckmässiger, durch Decantiren, d. h. durch Abgiessen der Flüssigkeit vom Niederschlage so gut es geht, Aufgiessen einer Portion Waschflüssigkeit auf denselben, Umrühren, Absetzenlassen, Abgiessen dieser Flüssigkeit und Wiederholung dieser Procedur, die Niederschläge von gelösten Substanzen allmälig zu befreien. Man filtrirt dann die abgegossenen Flüssigkeiten und bringt nach völligem Auswaschen endlich den ganzen Niederschlag aufs Filter.

Trocknen.

9. Nicht leicht zersetzliche Substanzen trocknet man im sogenannten Trockenschranke oder auf dem Wasserbade oder im kleinen Luftbade bei 100—120°; viele Substanzen können, ohne Zersetzung zu erleiden, selbst bei 130—140° getrocknet werden. In manchen Fällen ist es zweckmässig, die Substanzen in einer Röhre im langsamen Luftstrome, der vorher durch ein mit Chlorcalciumstücken gefülltes Rohr oder eine conc. Schwefelsäure enthaltende Waschflasche seines Wasserdampfes beraubt ist, zu trocknen, indem man die Röhre, welche die Substanz enthält, in ein Luftbad oder Wasserbad einlegt. Den Luftstrom erzeugt und regulirt man durch einen Aspirator.

Die Kugel des Thermometers, welches die Trockentemperatur im Luftbade anzeigt, soll ebensowenig wie das Gefäss, in welchem sich der zu trocknende Körper befindet, irgendwo die Wandung des Luftbades direct berühren; beide sollen etwa in gleicher Höhe mindestens 2—3 cm hoch über dem Boden des Luftbades stehen. Die Luftbäder haben gewöhnlich zu dem Zweck, das Gefäss mit der Substanz aufzunehmen, einen metallenen Träger in der angegebenen Höhe über dem Boden des Luftbades. Ist

das Gefäss, in dem sich die zu trocknende Substanz befindet, ein metallenes, so stellt man es am Besten auf ein Dreieck aus feinem Platindraht oder auf ein Stück Papier, damit nicht durch metallene Leitung das Gefäss und somit der zu trocknende Körper eine höhere Temperatur erlangt, als das Thermometer des Luftbades anzeigt. Man heizt das Luftbad langsam durch eine kleine Flamme bis auf die erforderliche Temperatur.

Filtrirpapier und andere hygroscopische Substanzen, somit auch alle pulverförmigen Körper trocknet man in Gefässen, welche man noch heiss gut verschliessen kann. Insbesondere empfiehlt sich hierzu der allgemein gebrauchte Apparat, bestehend aus 2 gut aufeinander passenden Uhrgläsern und einem metallenen Halter, welcher die Ränder der Uhrgläser dicht aufeinander gedrückt hält. Man bringt die zu trocknenden Pulver oder Filter in das eine der Uhrgläser, legt das andere umgekehrt lose darauf, so dass es jedoch nicht schliesst, erhält die Substanz in den Uhrgläsern etwa $^1/_4$ Stunde im Luftbade bei der erforderlichen Temperatur (Filter dürfen nicht wohl über 130^0 erhitzt werden), öffnet dann das Luftbad, schiebt das obere Glas über das untere, so dass sie gut schliessen, schiebt auch den Halter über und lässt den Apparat mit der Substanz unter einer Glasglocke über einer Schale, welche mit concentrirter Schwefelsäure oder Natronkalk halb gefüllt ist (Exsiccator), erkalten. Ebenfalls sehr zweckmässig sind die sog. Trockengläschen mit eingeschliffenem Deckel.

Substanzen, welche hohe Temperatur nicht ohne Zersetzung ertragen, trocknet man entweder im Vacuumtrockenschrank oder bei gewöhnlicher Temperatur über concentrirter Schwefelsäure im luftverdünnten Raume. Im letzteren Fall erfordert das Trocknen, selbst wenn die Substanzen relativ grosse Oberfläche haben, meist mehrere Tage; insbesondere trocknen uncoagulirte Eiweissstoffe schwer vollständig aus. Sind die Substanzen noch sehr nass, wenn man sie der Luftverdünnung aussetzen will, so vermeide man beim Evacuiren den Siedepunkt der benetzenden Flüssigkeit zu erreichen, da beim plötzlichen, meist stossweisen Sieden leicht durch Verspritzen Verluste entstehen.

Sicherheit über völlig vollendetes Austrocknen giebt nur Wägen der Substanz, Wiederholung des Trocknens und Wiederwägen. Ist das Gewicht beim zweiten Wägen gleich dem früher gefundenen (Gewichtsconstanz), so ist die mögliche Trockenheit erreicht.

Glühen.

10. Substanzen, die man hohen Hitzegraden aussetzen will, sind stets vorher hinreichend zu trocknen. Man glüht dieselben im Porzellan- oder Platintiegel, kleine Proben auch auf einem Stück Platinblech oder im Platinlöffel; enthalten jedoch die zu glühenden Substanzen leicht reducirbare Metalle: als Kupfer, Blei, Silber, Gold, Zinn, oder enthalten sie Jod, Brom, Phosphor, so sind alle Platingefässe zu vermeiden. Hat man auf

dem Filter gesammelte Niederschläge zu glühen, so setzt man den Tiegel auf ein Stück Glanzpapier, öffnet vorsichtig das mit dem Niederschlage vorher gut getrocknete Filter, schüttet den Inhalt möglichst vollständig auf ein zweites Stück Glanzpapier, bringt das zusammengefaltete Filter in den Tiegel, verbrennt es, bringt darauf den Niederschlag vom Glanzpapier ebenfalls vollständig, die letzten Spuren mit Hülfe einer Federfahne in den Tiegel, desgleichen etwa neben den Tiegel gefallene Stäubchen und erhitzt abermals. Zu dem Zweck stellt man den Tiegel auf oder richtiger in ein Dreieck von nicht zu schwachem Eisendraht oder besser Platindraht (nie auf einen Messing- oder Kupferträger); sehr zweckmässig ist es, in einem Dreieck von Eisendraht ein kleineres Dreieck von Platindraht auszuspannen und letzteres als Träger für den Tiegel zu benutzen. Die Erhitzung des Tiegels darf dann nur allmälig höher und höher durch die Flamme gesteigert werden, und man hat um so sorgfältiger die heftige Erhitzung zu vermeiden, je lebhafter Gas- und Rauchentwickelung sich zeigt. Ein Auflegen des Deckels ist im Anfang zweckmässig, ebenso auch bei Veraschungen am Ende, um durch möglichste Steigerung der Hitze die letzten Spuren von Kohle, die die Wandungen des Tiegels nicht unmittelbar berühren, zu entfernen. Das Auflegen des Deckels im Anfange ist besonders wichtig, um Verluste durch Zerplatzen von Krystallen (Decrepitiren) oder trockner amorpher Stoffe, Eiweiss, Leim u. s. w. zu vermeiden. Durch zu schnelles Erhitzen erhält man leicht Verluste an feuerbeständigen Substanzen durch die heftig entweichenden Gase; Eisenoxyd und Platin können beim schnellen Erhitzen von Hämatin und Platinsalmiak reichlich durch die Gase fortgerissen werden; Auflegen des Deckels wirkt hierfür eher schädlich als nützlich. Nach beendetem Glühen lässt man den Tiegel auf dem Dreieck ein Wenig erkalten, bringt ihn aber, falls man die geglühte Masse wägen will, noch heiss in den Exsiccator und lässt sie hier völlig erkalten, ehe man zum Wägen schreitet.

2. Quantitative Methoden.

Die folgenden Paragraphen handeln von der Gewichts- und Maassanalyse. Eine Beschreibung der sog. Elementaranalyse und der gasanalytischen Methoden ist unterlassen. Eine genaue Schilderung würde den Umfang dieses Buches bedeutend vermehren, eine kurze aber für die praktischen Untersuchungen keinen Nutzen gewähren.

Ueber Gewichtsanalyse.

11. Bei der gewichtsanalytischen Bestimmung handelt es sich zunächst um eine Isolirung der zu bestimmenden Substanz. Die Art der Isolirung ist in den einzelnen Fällen eine verschiedene. Fett z. B. lässt sich durch Aether, in dem es leicht löslich ist, von allen Stoffen, die in Aether unlöslich sind, befreien. Befindet sich die zu isolirende Substanz, wie es in der Regel der

Fall ist, zusammen mit anderen Stoffen in Lösung, so lässt sich die Abscheidung in je nach der Natur der Substanz verschiedener Weise bewirken, z. B. dadurch, dass man einen Körper hinzufügt, der mit ihr eine unlösliche Verbindung eingeht (Chlorbarium wenn Schwefelsäure bestimmt werden soll) oder dadurch, dass man sie direct in eine unlösliche Modification überführt (Eiweiss durch Erhitzen) oder dadurch, dass man sie durch Eintragen von Salz in die Lösung zur Abscheidung bringt (Eiweiss). Die Fällungen werden in Bechergläsern, die Eiweisscoagulationen in Schalen vorgenommen. Stets ist darauf zu achten, dass die Abscheidung eine vollkommene ist: das Filtrat darf auf Zusatz weiteren Fällungsmittels keine Trübung mehr geben bezw. keine der Eiweissreaktionen mehr zeigen.

Die Filtration geschieht, wenn der Niederschlag später geglüht werden soll, durch ein aschefreies Filter, andernfalls durch ein vorher getrocknetes und zwischen Uhrgläsern oder im Trockengläschen gewogenes Filter (§ 9). Das Trocknen des Filters muss bei derselben Temperatur geschehen, bei der später der Niederschlag getrocknet werden soll. In Bezug auf Einlegen des Filters in den Trichter, Aufbringen des Niederschlags, Auswaschen desselben siehe §§ 7 und 8. Das Filtrat muss völlig klar sein, event. so lange zurückgegossen werden, bis dies der Fall ist. Die letzten Reste des Niederschlags werden mit der Federfahne auf das Filter gebracht. Das Auswaschen ist fortzusetzen, bis im Filtrat keine Spur des Fällungsmittels oder eines anderen Stoffes nachgewiesen werden kann. Ob die Filtration unter gewöhnlichem oder vermindertem Druck vorzunehmen ist, richtet sich nach der Art des Niederschlags.

Ist der Niederschlag rein anorganisch oder handelt es sich um ein organisches Salz, dessen Metall bestimmt werden soll, so verfährt man nach den in § 10 gegebenen Vorschriften. Der Tiegel ist vorher leer zu glühen und zu wägen und desgleichen mit dem Glührückstand. Die Differenz beider Gewichte ergiebt die Menge der geglühten Substanz.

Soll der Niederschlag nicht geglüht, sondern nur getrocknet und gewogen werden, so verfährt man nach § 9. Das Trocknen und Wägen geschieht in demselben Uhrglasapparat resp. demselben Trockengläschen, in dem das Filter getrocknet war, so dass die Differenz der beiden Gewichte das Gewicht des Niederschlags direkt ergiebt. Glühen sowie Trocknen muss bis zum constanten Gewicht fortgesetzt werden.

In manchen Fällen, z. B. bei der Bestimmung des Chlorsilbers, empfiehlt sich die Benutzung des Goochtiegels, der gleichzeitig als Filter dient. Es ist das ein Porzellan- oder Platintiegel, auf dessen durchlöchertem Boden eine Lage von weichem, langfaserigem, völlig reinem Asbest sich befindet. Man glüht ihn zusammen mit dem Asbestfilter (stellt ihn zu dem Zweck, um die directe Einwirkung der Flammengase zu vermeiden, in einen zweiten grössern gewöhnlichen Tiegel) oder erhitzt ihn im Luftbade, wägt ihn nach dem Abkühlen, befestigt ihn mittelst eines Kautschuk-

ringes in einem Glastrichter, welcher mit der Wasserstrahlpumpe in Verdindung steht und filtrirt. Nach dem Auswaschen wird er getrocknet, geglüht oder im Luftbade wieder erhitzt und wieder gewogen.

12. In Bezug auf die Benutzung der analytischen Wage ist Folgendes zu bemerken: Die Wage ist stets arretirt zu halten, ausser in der einzelnen Probe beim Wägen selbst. Desgleichen ist die Thür geschlossen zu halten und nur zum Zweck des Aufbringens der Gewichte zu öffnen. Die zu wägende Substanz darf nie direct auf die Wagschale gelegt werden. Die Gefässe, in denen Substanzen gewogen werden, sollen möglichst leicht sein und die Grösse der Totalbelastung der Wage darf sich möglichst wenig der grössten erlaubten Belastung (meist 100—200 g) nähern; ist letzteres unvermeidlich, so ist die Arretirung besonders behutsam und nur auf kurze Zeit zu lösen. Die zu wägenden Gegenstände müssen völlig abgekühlt sein; heisse Körper erscheinen wegen der an ihnen aufsteigenden erwärmten Luftströme leichter als sie sind. Flüchtige Stoffe, auch Wasser enthaltende Körper, sowie vorher getrocknete hygroskopische Substanzen dürfen nur in verschlossenen Gefässen gewogen werden. Die Gewichte dürfen nur mit der Pincette gefasst und transportirt werden, nie mit den Fingern. Es ist zweckmässig, die Gewichte stets auf die eine, die zu wägende Substanz auf die andere Wagschale zu legen. Die Wägung ist beendet, wenn der Zeiger nach beiden Seiten gleich ausschlägt; man sorge aber dafür, dass die Excursionen ausgiebig erfolgen. Schliesslich addire man zunächst nach den fehlenden Gewichten im Gewichtskasten das Gewicht der Substanz und controllire dann beim Zurückbringen der Gewichte in den Kasten. Die Belastung darf auf der Wage nicht längere Zeit stehen bleiben, am Wenigsten einseitige Belastung.

Zum Abwägen trockener pulveriger Substanzen werden am Besten auf der einen Seite zugeschmolzene Röhrchen von ca. 1 cm lichter Weite und 10—15 cm Länge (Wägeröhrchen) benutzt. Man tarirt eines derselben auf einer groben Wage, legt auf die andere Wagschale so viel Gramme oder Bruchtheile von Grammen in Gewichten, als man ungefähr Substanz für die Bestimmung benutzen will und füllt nun Substanz in das Röhrchen bis ungefähr Gleichgewicht erreicht ist. Jetzt bringt man in soviel Röhrchen, als man Controllanalysen ausführen will, die der abgewogenen dem Augenscheine nach gleiche Menge, stellt die Röhrchen zusammen in ein Becherglas, wägt auf einer feinen Wage genau, notirt das Gewicht, schüttet den Inhalt eines Röhrchens in das für den jeweiligen Zweck geeignete Gefäss (Platinschale, Becherglas, Kolben*) aus, stellt es in das Becherglas zurück, wägt und notirt wieder das Gewicht. Die Differenz ergiebt die Menge der Substanz. Nun wird ein zweites Röhrchen in ein anderes Gefäss ausgeschüttet und in derselben Weise verfahren u. s. w. Sollen klebrige Substanzen (Muskeln, Organe) in genau abgewogener Menge in einen Kolben gebracht werden, so wägt man sie auf einem vorher gewogenen Stückchen asche- (und stickstoff-) freien Filtrirpapiers ab und schiebt sie in Form eines allseitig von Papier umschlossenen Packet-

---

*) Soll ein Kolben z. B. ein Kjeldahlkolben benutzt werden, so muss das Röhrchen mindestens die Länge des Kolbenhalses haben, damit man es vor dem Ausschütten durch den Kolbenhals hindurchschieben kann.

chens durch den Hals des Kolbens hindurch. Statt dessen kann man auch Bruchstücke eines Reagenzglases, von dem man sich vorher überzeugt hat, dass es den Kolbenhals passirt, als Träger benutzen.

Ueber Maassanalyse.

13. Für volumetrische oder titrimetrische Bestimmungen dienen Lösungen von bekanntem Gehalt, bekanntem „Wirkungswerth" (Titrirflüssigkeiten), welche zu den Lösungen, die die zu bestimmende Substanz enthalten, in gemessenen Mengen aus Büretten zugesetzt werden bis zur sog. Endreaction. Aus der Anzahl der bis zum Eintritt der Endreaction gebrauchten cc ergiebt sich das Resultat durch Rechnung. Die Endreaction ist fast stets eine Farbenreaction.

Die Titrirflüssigkeiten sind entweder Normallösungen oder empirische Lösungen.

Normallösungen enthalten in 1 Liter Wasser das Aequivalentgewicht einer Säure, einer Base, eines Salzes in Grammen gelöst. Das Aequivalentgewicht fällt bei einwerthigen Säuren und Basen (z. B. HCl, $NaOH$) mit dem Molekulargewicht zusammen, bei mehrwerthigen Säuren und Basen [z. B. H_2SO_4, $Ca(OH)_2$] findet man es, wenn man das Molekulargewicht durch die Werthigkeit dividirt.

Bei physiologisch-chemischen Untersuchungen benutzt man meist schwächere Lösungen, z. B. $^1/_{10}$, $^1/_{20}$, $^1/_{100}$ Normallösungen ($n/_{10}$, $n/_{20}$, $n/_{100}$ Lösungen), die also den 10., 20., 100. Theil des Aequivalentgewichts im Liter enthalten.

Empirische Lösungen dienen ganz bestimmten Zwecken. Der Gehalt wird mit Rücksicht auf die Einfachheit der Rechnung gewählt, so ist z. B. die für die Chlortitrirung benutzte Silberlösung so hergestellt, dass 1 ccm gerade 0,01 g $NaCl$ entspricht.

Man unterscheidet unter den volumetrischen Methoden: 1. Acidi- und Alkalimetrie, 2. Fällungsanalysen, 3. Oxydimetrie mittelst Permanganat, 4. Jodometrie.

14. Allgemeine Vorbemerkungen. 1. Genaue Abmessungen können nur in Maasskolben, Büretten, Pipetten vorgenommen werden. Maasscylinder dienen nur zu annähernden Abmessungen. 2. Alle Gefässe, Büretten, Pipetten, Trichter, welche zur Aufnahme oder Herstellung von Titrirflüssigkeiten dienen, müssen trocken sein oder wiederholt mit der betreffenden Flüssigkeit ausgespült werden. Dasselbe gilt für alle sonstigen Abmessungen, welche bei der Berechnung der Resultate in Betracht kommen. 3. Beim Auffüllen von Maasskolben, Einstellen der Flüssigkeit in Büretten und Pipetten ist darauf zu achten, dass die untere Grenze des dicken (bei durchfallendem Licht durch Reflexion und Brechung dunkel erscheinenden) Ringes, welcher sich an der Peripherie des Niveaus durch Emporsteigen der Flüssigkeit an der Glaswand bildet, auf der Marke oder

dem betreffenden Theilstrich gerade aufsitzt. Das Gefäss muss sich dabei in vollkommen verticaler Stellung, das Auge in gleicher Höhe mit dem Flüssigkeitsniveau befinden. Dasselbe gilt für das Ablesen des Flüssigkeitsstandes in Büretten. Die Eintheilung der Bürettenscala in $^1/_{10}$ ccm gestattet $^1/_{20}$ ccm noch genau abzulesen. Ein möglichst genaues Ablesen ist durchaus erforderlich. Vor Beginn einer jeden Titrirung ist der Flüssigkeitsstand in der Bürette zu notiren. 4. Beim Füllen der Büretten ist darauf zu achten, dass alle Luft aus dem Gummiverbindungsstück und der Glasspitze entfernt wird. Man erreicht dies durch wiederholtes schnelles Oeffnen des Bürettenhahnes. 5. Die Titrirungen mit Ausnahme derjenigen, bei denen der Gehalt schon annähernd bekannt ist, sind wiederholt auszuführen. Die erste hat nur den Zweck einer Orientirung über die ungefähr nöthige Menge und wird deshalb ganz schnell ausgeführt. Man kommt bei Befolgung dieses Rathes trotz der Wiederholung schneller zum Ziel, als wenn man die Titrirlösung von vornherein so langsam zulässt, wie es nöthig ist, um nicht über das Ziel hinauszuschiessen. Bei der Alkali- und Acidimetrie ist nur eine Titrirung erforderlich, da man hier den Vortheil hat einen zugefügten Ueberschuss durch Zurücktitriren wieder korrigiren zu können. 6. Die für eine Titrirung erforderliche ccm-Anzahl soll weder eine zu kleine noch eine zu grosse sein. Braucht man z. B. bei der Acidimetrie für 5 ccm einer Säure nur 2 oder 3 ccm eines Normalalkali, so wiederholt man die Titrirung unter Benutzung der vielleicht vierfachen Menge oder ist in einem anderen Falle nach Zufügen von 25 ccm die Endreaction immer noch nicht erreicht, so wiederholt man die Titrirung ebenfalls, nachdem die Säure mit gemessenem Volumen Wasser verdünnt ist.

Acidimetrie und Alkalimetrie.

Erforderliche Lösungen: $n/_{10}$ Natronlauge, $n/_{10}$ Schwefelsäure und Indicatoren.

15. **Indicatoren** sind Farbstofflösungen, welche beim Uebergang der sauren in die alkalische Reaction und umgekehrt ihre Farbe ändern und dadurch die Endreaction angeben. Als solche kommen unter vielen andern in Betracht: Lacmustinctur, nicht geeignet für Titrirung von Phosphorsäure. Phenolphtalein (1 proc. alkoholische Lösung), für Ammoniak nicht geeignet. Rosolsäure (0,2 proc. schwach alkoholische Lösung). Lacmoid-Malachitgrün (hergestellt durch Versetzen von 150 ccm einer gesättigten alkoholischen Lacmoidlösung mit 10—15 ccm einer 2 proc. alkoholischen Lösung von Malachitgrün). Die beiden letzten auch für Titrirung von Ammoniak geeignet.

16. **Ausführung einer Bestimmung.** Man fülle 2 Büretten, die eine mit $n/_{10}$ NaOH, die andere mit $n/_{10}$ H_2SO_4, bringe ein bestimmtes Volumen der auf ihren Gehalt an Säure zu bestimmenden Flüssigkeit z. B.

5 ccm verdünnter Salpetersäure mit einer Pipette in ein Kölbchen, füge einige Tropfen eines Indicators z. B. Lacmustinctur hinzu und lasse aus der Bürette unter Umrühren so lange $n/_{10}$ NaOH zufliessen, bis die rothe Farbe in blau umschlägt. Jetzt gebe man aus der anderen Bürette vorsichtig $n/_{10}$ H_2SO_4 hinzu, bis die blaue Farbe eben wieder in Roth übergegangen ist und gehe so vorsichtig hin und her, bis die Flüssigkeit einen violetten Farbenton (sog. Uebergangsfarbe) zeigt, welcher auf Zusatz eines Tropfens Säure in Roth, eines Tropfens Alkali in Blau übergeht. Jetzt ist die Titrirung beendet. Die Anzahl der verbrauchten ccm $n/_{10}$ NaOH abzüglich der verbrauchten ccm $n/_{10}$ H_2SO_4 ergeben mit 6.3 (der 10. Theil des Aequivalentgewichts der HNO_3) multiplicirt in mg die Menge HNO_3, welche in 5 ccm der verdünnten Salpetersäure enthalten war.

Acidimetrische und alkalimetrische Bestimmungen werden bei physiologisch-chemischen Untersuchungen vielfach angewandt, z. B. bei der Bestimmung des Stickstoffs nach Kjeldahl, bei der Ammoniakbestimmung, bei der Untersuchung der Acidität von Harn, Magensaft, der Alkalescenz von Blut, bei der Phosphorsäurebestimmung nach A. Neumann.

17. **Herstellung von $n/_{10}$ Natronlauge und $n/_{10}$ Schwefelsäure.**

a) Mit Hülfe von $n/_{10}$ Oxalsäure. Da Aetznatron und Schwefelsäure nicht frei von Wasser und Kohlensäure bezw. Wasser abgewogen werden können, so geht man von der $n/_{10}$ Oxalsäure aus und wägt von einer gut crystallisirten (nicht verwitterten) pulverisirten Oxalsäure ($C_2H_2O_4 + 2H_2O$) 6,303 g (der 10. Theil des Aequivalentgewichts) auf einem Uhrglas genau ab, bringt sie ohne Verlust mit Hülfe der Spritzflasche in ein Becherglas, fügt Wasser hinzu, löst völlig auf, führt die Flüssigkeit quantitativ unter wiederholtem Nachspülen mit Wasser in einen Litermaasskolben über, füllt bis zur Marke mit Wasser auf und mischt gut.

Um mit Hülfe dieser $n/_{10}$ Oxalsäure die $n/_{10}$ Natronlauge herzustellen, werden etwa 12 ccm einer 33 proc. Natronlauge in einem grossen Maasscylinder mit Wasser auf etwa 1000 ccm verdünnt und gut umgeschüttelt. Mit dieser Lösung füllt man eine Bürette, eine andere mit der $n/_{10}$ Oxalsäure, lässt von letzterer 10 ccm in ein Kölbchen fliessen, fügt einige Tropfen Indicator hinzu und nun unter vorsichtigem Umschütteln so lange von der Natronlauge, bis der Farbenumschlag erfolgt. Man liest ab, wie viel ccm gebraucht sind. Sind das z. B. 6,8, so hat man zu je 6,8 ccm der Natronlauge 3,2 ccm Wasser hinzuzufügen, um sie zu einer $n/_{10}$ NaOH zu machen. Die diesem Verhältniss (6,8 : 3,2) entsprechende Menge Wasser abzüglich einiger ccm wird nun zu der Hauptmenge der Natronlauge in den Maasscylinder gegossen, die gut gemischte Flüssigkeit in eine Bürette gefüllt und die Titrirung wiederholt. Wieder erfährt man durch Ablesen und Rechnung die Menge des noch zuzufügenden Wassers, setzt aber auch jetzt etwas weniger Wasser zu als die Rechnung ergiebt. Nach einer 2. oder 3. Wiederholung hat man bei genauem Arbeiten in der Regel erreicht, dass

zur Neutralisation von 10 ccm $n/_{10}$ Oxalsäure genau 10 ccm der Natronlauge erforderlich sind, dass also die Natronlauge eine $n/_{10}$ NaOH ist.

Die Herstellung der $n/_{10}$ H_2SO_4 geschieht mit Hülfe der $n/_{10}$ NaOH ganz in der eben beschriebenen Weise.

b) Mit Hülfe der Natriumpresse von A. Kossel[1]).

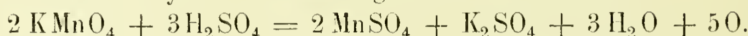
Dieser Apparat gestattet eine sehr einfache und schnelle Herstellung von $n/_{10}$ NaOH aus metallischem Natrium.

Fällungsanalysen.

18. Fällungsanalysen nennt man diejenigen volumetrischen Bestimmungen, bei denen die Titrirflüssigkeit einen Niederschlag hervorruft. Man verwendet hierbei meist empirische Lösungen. Die Endreaction besteht in den meisten Fällen in dem Auftreten eines anders gefärbten Niederschlags, der durch die als Indicator dienende Substanz hervorgerufen wird. Gewöhnlich kann man den Indikator von vornherein der zu titrirenden Flüssigkeit zusetzen (Salzsäurebestimmung nach Mohr und nach Volhard), zuweilen muss man sich der sog. Tüpfelmethode bedienen (Phosphorsäuretitrirung mit Uranacetat und Ferrocyankalium, Harnstofftitrirung).

Oxydimetrie mittelst Permanganat.

19. Bei der Oxydation findet folgende Reaction statt:



$$2\,KMnO_4 + 3\,H_2SO_4 = 2\,MnSO_4 + K_2SO_4 + 3\,H_2O + 5\,O.$$

2 Moleküle Permanganat liefern also 5 At. Sauerstoff.

Da die Permanganatlösungen sich leicht zersetzen, stellt man Lösungen her, welche ungefähr 3—3,5 g Kaliumpermanganat im Liter enthalten und ermittelt vor jedesmaligem Gebrauch den Wirkungswerth durch Titration mit $n/_{10}$ Oxalsäure. Braucht man schwächere Lösungen, so löst man nur 0,3 bis 0,35 g im Liter und titrirt mit $n/_{100}$ Oxalsäure. Die abgewogene Menge Kaliumpermanganat wird in einigen 100 ccm heissem Wasser gelöst, auf 1 Liter verdünnt, nach einigem Stehen vom etwa gebildeten Bodensatz abgegossen und die Lösung in einer Flasche mit Glasstopfen aufgehoben. Für die Feststellung des Titers bringt man 10 ccm der Oxalsäure in einen Kolben, fügt überschüssige verdünnte Schwefelsäure hinzu, erwärmt auf 70—80° und lässt nun die in einer Glashahnbürette befindliche Permanganatlösung unter Umschütteln zufliessen, bis ein Tropfen eine auch beim Umschütteln nicht verschwindende eben erkennbare Rosafärbung bewirkt (Endreaction). Die bis zum Eintritt der Endreaction erforderten ccm vermögen gerade 0,063 bezw. 0,0063 g Oxalsäure zu oxydiren, indem sie 0,008 bezw. 0,0008 g Sauerstoff liefern.

Diese Titrirung findet Verwendung bei der Bestimmung von Eisen und von Calcium.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie. **33**. 1. (1901).

Jodometrie.

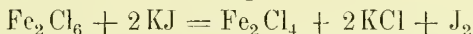
20. Man braucht dazu eine $n/_{10}$ Jod- und eine $n/_{10}$ Natriumthiosulfatlösung. Die Reaction verläuft nach folgender Gleichung:



$$2\,J + 2\,Na_2S_2O_3 = 2\,NaJ + Na_2S_4O_6.$$

Zur Herstellung wägt man genau 24,8 g crystallisirtes Thiosulfat ($Na_2S_2O_3 + 5\,H_2O$) ab und löst in der oben beschriebenen Weise zu 1 Liter, andererseits löst man 12,7 g Jod in Wasser, welches 25 g JK gelöst enthält und füllt etwa bis auf 900—950 ccm auf. Zu 20 ccm der Thiosulfatlösung fügt man einige Tropfen einer verdünnten Stärkelösung*) und lässt dann aus einer Glashahnbürette die Jodlösung zufliessen bis Blaufärbung eintritt (Endreaction durch Bildung von blauer Jodstärke). Haben wiederholte Versuche das gleiche Resultat ergeben, so verdünnt man die Jodlösung mit so viel Wasser, dass für 20 ccm der Thiosulfatlösung gerade 20 ccm Jodlösung nöthig sind und controllirt durch Wiederholung der Titrirung. Beide Flüssigkeiten sind in dunkeln mit Glasstopfen versehenen Gefässen aufzubewahren; die Jodlösung muss häufig auf ihren Titer geprüft werden. 1 ccm der Thiosulfatlösung entspricht 0,0127 g Jod.

Da Eisenoxydsalze in der Wärme bei Gegenwart von Salzsäure aus Jodkalium unter Bildung von Eisenoxydulsalzen Jod frei machen und dieser Process quantitativ nach der Gleichung



$$Fe_2Cl_6 + 2\,KJ = Fe_2Cl_4 + 2\,KCl + J_2$$

verläuft, so kann die Jodometrie auch zur Bestimmung von Eisenoxydsalzen benutzt werden. Für die Bestimmung der geringen Mengen von Eisen in der Asche von Harn und Geweben empfiehlt A. Neumann eine $n/_{250}$ Thiosulfatlösung, deren Titer er mit Hülfe einer Eisenchloridlösung von bekanntem Gehalt einstellt.

Mit Hülfe der Jodometrie bestimmt man Eisen, Phenole, Aceton.

3. Einige physikalische Methoden.

Untersuchung von Krystallen.

21. Die Darstellung der Krystalle der verschiedenen krystallisirbaren Körper ist so verschiedenartig, dass sich allgemeine Regeln kaum geben lassen. Nur für die mikroskopische Untersuchung ist es von Wichtigkeit darauf aufmerksam zu machen, dass man in vielen Fällen am Besten thut die Krystalle des Körpers, die man untersuchen will, auf dem Objectträger sich selbst bilden zu lassen, da feine Krystalle auch bei vorsichtiger Behandlung beim Uebertragen auf den Objectträger meist sehr beschädigt werden. Man bringt zu dem Zwecke einen Tropfen der concentrirten Lösung der zu prüfenden Substanz auf den Objectträger, legt ein Deckgläs-

---

*) Hergestellt durch Auflösen von etwa 1 g löslicher Stärke in 500 ccm Wasser in der Siedehitze.

chen auf und lässt einige Zeit an der Luft, oder wenn der Körper leicht zerfliessende Krystalle bildet, im Exsiccator stehen, lässt nöthigenfalls von Zeit zu Zeit noch einige Tropfen der ganz concentrirten Lösung von der Seite hinzufliessen, untersucht schliesslich die gebildeten Krystalle mit dem Mikroskope, während sie allseitig von der concentrirten Lösung umgeben sind. Um bei unregelmässigen Knollen- oder Kugelformen zu entscheiden, ob sie aus Krystallen oder aus amorphen Stoffen gebildet sind, untersucht man die fraglichen Körper unter Anwendung des Polarisationsmikroskops und eines dünnen Gyps- oder Glimmerblättchens, welches bei gekreuzten Nicols so unter den Objectträger geschoben ist, dass das Licht erst durch das Glimmerblättchen und dann durch die zu prüfenden Krystalle geht. Ist das Glimmerblättchen richtig orientirt, so ist das Gesichtsfeld lebhaft gefärbt und darüber befindliche Krystalle werden, wenn sie nicht dem regulären System zugehören, je nach ihrer Lage gleiche oder andere Farben haben als das übrige Gesichtsfeld, während amorphe Substanzen keine Aenderung oder Färbung des Gesichtsfeldes hervorrufen. Thierische oder pflanzliche Gewebstheile zeigen jedoch so wie die nicht regulären Krystalle Doppelbrechung und lassen sich daher durch die Prüfung im polarisirten Lichte mit dem Glimmerblättchen nicht von letzteren unterscheiden. Auch solche Substanzen, welche in Wasser aufgequollen auf dem Objectträger eintrocknen, zeigen während und nach dem Trocknen Doppelbrechung, da sie beim Trocknen eine unregelmässige Spannung erhalten; so zeigt es sich z. B. beim Leim. Es sind daher alle auf Krystallisation zu prüfenden Körper während der Untersuchung vor dem Trocknen zu schützen, indem man sie stets von Flüssigkeit umgeben erhält.

Bestimmung des spec. Gewichts von Flüssigkeiten.

22. a) Durch Aräometer. Das Gefäss, in dem die Bestimmung vorgenommen werden soll, muss eine solche Weite haben und so hoch mit der zu prüfenden Flüssigkeit gefüllt sein, dass das Aräometer, ohne die Wandungen und den Boden zu berühren, schwimmen kann. Das Instrument soll in vollkommen reinem und trockenem Zustande langsam in die Flüssigkeit eingesenkt werden und darf während der Ablesung nicht an die Wandung anstossen. Der Theilstrich der Scala, bei welchem das Niveau der Flüssigkeit die Spindel des schwimmenden Aräometers schneidet, giebt bei zweckmässig hergestellten Instrumenten direct das spec. Gewicht an.

Die Aräometerspindeln sind gewöhnlich für Flüssigkeiten von 15° bis 17° angefertigt und eine Correctur ihrer Angabe dann nur nöthig, wenn die Temperatur der mit ihnen untersuchten Flüssigkeiten hiervon mehr als einige Grade abweicht. In solchen Fällen ist es am Einfachsten die Flüssigkeit auf die richtige Temperatur zu bringen.

Zur Bestimmung des spec. Gewichts trüber Flüssigkeiten, wie Blut, Milch, Eiter sind Aräometer nicht zu verwenden.

23. b) Durch Pycnometer. Diese Bestimmung, am Besten in einem mit Thermometer versehenen Pycnometer ausgeführt, ist für genaue Ermittelungen die allein zulässige.

Zur Ausführung ist zuerst das Gewicht des leeren und trocknen Pycnometers zu ermitteln, dann ist dasselbe mit ausgekochtem destillirtem Wasser ganz zu füllen, nach Entfernung etwaiger Luftbläschen das Thermometer einzusetzen und die Oberfläche des Fläschchens schnell abzutrocknen, ohne es hierbei mit der Hand zu erwärmen. Nun hat man die Kappe auf das Capillarröhrchen aufzusetzen, die Temperatur am Thermometer abzulesen, einen etwa herabgelaufenen Tropfen abzutrocknen und zu wägen. Man giesst dann das Wasser aus und trocknet das Fläschchen, Thermometer u. s. w. sorgfältig, füllt das Fläschchen mit der Flüssigkeit, deren spec. Gewicht bestimmt werden soll, in der angegebenen Weise, setzt das Thermometer ein, trocknet aussen gut ab, setzt die Kappe auf das Capillarrohr, liest die Temperatur ab und wägt. Zieht man das Gewicht des Pycnometers von den beiden gefundenen Gewichten, 1) des Pycnometers mit Wasser und 2) des Pycnometers mit Flüssigkeit ab, so erhält man die Gewichte gleicher Volumina von Wasser und von der zu untersuchenden Flüssigkeit und wenn beide Bestimmungen bei derselben Temperatur vorgenommen waren, so giebt das Gewicht der Flüssigkeit dividirt durch das Gewicht des gleichen Volumen Wasser das spec. Gewicht jener Flüssigkeit. Meist werden jedoch die Füllungen und Wägungen des Pycnometers mit Wasser und mit den zu untersuchenden Flüssigkeiten bei verschiedenen Temperaturen vorgenommen und das Gewicht des Wassers, welches das Pycnometer füllt, ist entsprechend den Temperaturen, bei denen das Gewicht der Flüssigkeiten bestimmt wurde, zu corrigiren. Ist z. B. das Gewicht des Wassers, welches das Pycnometer bei 21° füllt, zu 24,1080 g gefunden und ferner das Gewicht einer Flüssigkeit, welche das Pycnometer bei 12° füllt, bestimmt, so ist zunächst zu berechnen, wie gross das Gewicht Wasser ist, welches das Pycnometer bei 12° füllen würde. Tab. I. Col. B. im Anhange giebt die spec. Gewichte des Wassers für die verschiedenen Temperaturen; bei 21° ist dasselbe 0,998023, bei 12° dagegen 0,999530, hiernach ist das Gewicht des Wassers, welches bei 12° das Pycnometer füllen würde, $= \frac{0,999530}{0,998023} \cdot 24,1080 = 24,1434$. Durch dies Gewicht sind nun die Gewichte der bei 12° dieses Pycnometer füllenden Flüssigkeiten zu dividiren und so die spec. Gewichte der letztern zu erhalten. Es ist selbstverständlich, dass mit dem Pycnometer auch die Gewichte von festen Körpern oder von Gemengen, z. B. Flüssigkeiten, welche feine Theilchen suspendirt enthalten (Harne mit Sedimenten, Milch, Blut u. s. w.) ermittelt werden können. — Sehr genaue Bestimmung des spec.

Gewichts erreicht man auch mittelst eines von Sprengel angegebenen Apparates[1]).

Die hydrostatische Wage und das Nicholson'sche Aräometer geben zwar für klare Flüssigkeiten genaue Resultate; doch ist ihr Gebrauch meist umständlich. Für trübe Flüssigkeiten sind sie ebensowenig zu verwenden wie Aräometer.

Bestimmung des Schmelz-, Coagulations- und Siedepunkts.

24. Zur Bestimmung des Schmelzpunkts bringt man eine kleine Menge der völlig trocknen Substanz in ein Capillarröhrchen und befestigt dieses mit einem Gummiring an einem Normalthermometer in der Weise, dass die Substanz sich in der Höhe des Quecksilbergefässes befindet. Das Thermometer ist mit einer Klemme an einem Stativ befestigt und taucht in ein etwa zu $^2/_3$ mit conc. Schwefelsäure gefülltes Becherglas, das, auf einem Drahtnetz stehend, durch eine Flamme erhitzt wird. Während des Erhitzens, das schnell geschehen soll, wird die Schwefelsäure mittelst eines Glasrührers bewegt, damit stets überall die gleiche Temperatur herrscht. Man beobachtet, bei welcher Temperatur die Substanz schmilzt, ob dem Schmelzen ein Zusammensintern vorangeht, ob sich die Substanz verfärbt, zersetzt u. s. w. Der so gefundene Schmelzpunkt ist der sog. uncorrigirte. Er ist etwas zu niedrig, da der Quecksilberfaden des Thermometers zum grossen Theil ausserhalb der Schwefelsäure sich befindet.

Zur Bestimmung der Coagulationstemperatur von Eiweissstoffen bringt man die Eiweisslösung in ein Reagenzglas, fixirt dieses in einem mit Wasser gefüllten und auf einem Drahtnetz stehenden Becherglas in der Weise, dass das Flüssigkeitsniveau im Becherglas höher steht, als im Reagenzglas, bringt in das Reagenzglas ein Thermometer, welches, durch einen auf dem Reagenzglas lose ruhenden Stopfen gehalten, bis in die Mitte der Flüssigkeit eintaucht und erwärmt nun langsam unter gleichzeitigem Umrühren des Wassers mit einem Rührer, bis in der klaren Eiweisslösung eine Abscheidung erfolgt. Nun wird die Temperatur abgelesen, abfiltrirt und das klare Filtrat weiter erhitzt, beim Erscheinen einer neuen Abscheidung in derselben Weise verfahren und so fort.

Zur Bestimmung des Siedepunktes bringt man die Flüssigkeit in einen kleinen Rundkolben mit langem Hals, in dessen oberen Theil ein schräg nach abwärts geneigtes Ansatzrohr eingeschmolzen ist (Destillirkölbchen). Das Ansatzrohr führt in eine Vorlage. Bei niedrig siedenden Flüssigkeiten ist zwischen Ansatzrohr und Vorlage ein längeres Rohr oder

---

[1]) Siehe bei Landolt, Das optische Drehungsvermögen organischer Substanzen. 2. Aufl. Braunschweig 1898, S. 406; vergl. hier auch die Angaben über die für möglichst genaue Bestimmungen erforderlichen Correcturen.

ein Liebig'scher Kühler einzuschalten. Das Destillirkölbchen ist durch einen Stopfen verschlossen, in dessen Bohrung ein Thermometer steckt. Das Thermometer soll sich möglichst seiner ganzen Länge nach im Kolbenhals befinden, aber nicht in die Flüssigkeit eintauchen, damit der Quecksilberfaden während des Siedens ganz vom Dampf umgeben ist.

Bestimmung der Löslichkeit.

25. Man schüttelt die möglichst fein gepulverte Substanz mit einer zur Lösung unzureichenden Menge Wasser oder eines andern Lösungsmittels in einer Flasche stundenlang, am Besten in einem Schüttelapparat, filtrirt, verdunstet einen abgewogenen Theil des klaren Filtrats, trocknet den Rückstand und wägt. Um die Löslichkeit bei Siedetemperatur zu bestimmen, kocht man längere Zeit, etwa 1 Stunde, am Rückflusskühler, filtrirt kochend heiss, wägt nach dem Erkalten, verdunstet, trocknet den Rückstand und wägt wieder.

4. Optische Methoden.

Die Benutzung optischer Untersuchungsmethoden haben sich für die Lösung theoretisch- wie practisch-chemischer Fragen bekanntlich ausserordentlich hülfreich erwiesen. Ein hervorragendes Interesse auch für medicinisch-chemische Zwecke verdienen ohne Zweifel die Methoden der Spectral- und der Circumpolarisationsuntersuchungen. Seltener anwendbar, aber zuweilen von Werth ist die Untersuchung der Fluorescenz.

Spectraluntersuchungen.

26. Fig. 1 giebt die Ansicht eines grösseren Spectroskops. Dasselbe besteht aus dem Collimatorrohr *a b*, an dessen einem Ende, dem Licht zugekehrt, bei *a* ein verticaler Spalt, durch Micrometerschraube enger oder weiter stellbar, sich befindet, während am andern Ende des Rohrs bei *b* die Convexlinse angebracht ist. Der Spalt soll im Brennpunkt der Convexlinse liegen.

Das durch den Spalt eintretende Licht wird durch den Collimator parallel gemacht und auf das Prisma *c* geworfen; in diesem Prisma gebrochen und in das Spectrum aufgelöst, treten die Lichtstrahlen in das astronomische Fernrohr *d e* ein, welches gewöhnlich 6—8 malige Vergrösserung hat, und gelangen von da bei *e* zum Auge des Beobachters; am Kopfe des Rohres *g h* bei *h* befindet sich eine feine durch eine Lampe zu beleuchtende (womöglich auf Wellenlängen geaichte) Scala auf Glas. Ist diese beleuchtet, so stellt ihr Bild von der dem Fernrohre zugekehrten Fläche des Prisma *c* als Spiegel reflectirt sich dem Auge des Beobachters bei *e* dar und zwar horizontal das Gesichtsfeld im Fernrohre theilend.

Es sind zuweilen zwei oder mehr Prismen im Spectralapparate combinirt angewendet, um eine grössere Dispersion des Spectrums zu erhalten. Für physiologisch-chemische Untersuchungen ist diese Verbreiterung des Spectrums wohl fast immer ohne Nutzen, insbesondere bei Untersuchung der Absorption der Lichtarten durch Farbstoffe. Hat das Prisma eine Neigung seiner Flächen von etwa 60° und besteht es aus hinreichend stark lichtzerstreuendem Glase, so wird es für jetzt allen Anforderungen für physiologisch-chemische Zwecke genügen, und sowohl starke Dispersion durch mehrere Prismen als stark vergrössernde Fernrohre sind durchaus zu vermeiden, da sie die Absorptionen des Lichtes in Flüssigkeiten weniger scharf zeigen, auch leuchtende Linien von glühenden Metalldämpfen wegen Lichtschwäche oft übersehen lassen, während man dieselben mit schwachem Fernrohre und einem Prisma noch ganz deutlich erkennt.

Um den Apparat richtig einzustellen, entfernt man zunächst das Prisma *c* und sieht in der Richtung von *b* nach *a* durch das erste Rohr bei mässig geöffnetem Spalte; man zieht nun das Rohr mit dem Spalte so

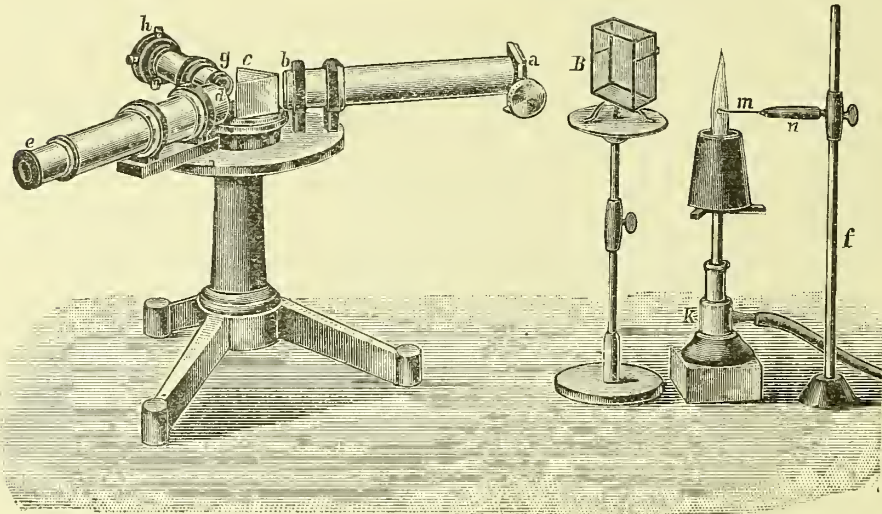


Fig. 1.

weit aus, bis die Ränder des letzteren ganz scharf begrenzt erscheinen, dann stellt man das Fernrohr *d e* so ein, dass man sehr weit entfernte Gegenstände recht deutlich dadurch erkennt, setzt darauf das Prisma wieder an seine Stelle und schiebt bei Beleuchtung der Scala *h* diese mit ihrem Rohre so weit ein, bis die Theilung der Scala bei der Beobachtung durch das Fernrohr möglichst scharf erkannt wird.

Für die meisten physiologischen Zwecke sind die Browning'schen Taschenspectroskope vorzuziehen, besonders wo es sich um Untersuchung von Farbstoffen handelt. Durch Combination verschiedener Prismen ist in diesen sehr bequemen, handlichen Instrumenten dem zum Auge des Beob-

achters austretenden Licht dieselbe Richtung gegeben, welche das durch den Spalt eintretende Licht besitzt. Die meisten Farbstoffprüfungen kann man mit ihnen schnell auch mit Benutzung von Tageslicht ausführen.

27. **Untersuchung von Farbstoffen mit dem Spectralapparate.** Die zu prüfenden Farbstoffe sind in womöglich concentrirter Lösung in ein Gefäss mit zwei planparallelen Wandungen aus Spiegelglas oder in Flaschen mit planparallelen Seitenwänden zu bringen; Fig. 1 auf S. 20 stellt ein solches Gefäss *B* vor dem Spectralapparate dar. Zur Untersuchung der Flüssigkeit stellt man den mit einem schwarzen Tuche überdeckten Spectralapparat so auf, dass entweder directes Sonnenlicht von einem Heliostaten oder starkes zerstreutes Tageslicht oder das Licht einer hellbrennenden Lampe in das Spectrum zerlegt im Fernrohre möglichst hell sichtbar wird; ausserdem wird die Scala bei *h* beleuchtet, so dass auch deren Bild deutlich erkennbar sich mitten durch das Gesichtsfeld im Fernrohre hinzieht. Jetzt stellt man den mit der Farbstofflösung gefüllten Glaskasten dicht vor den Spalt, so dass das Licht senkrecht durch die Glasplatten dieses Gefässes und die darin enthaltene Flüssigkeitsschicht hindurchgeht, ehe es in den Spalt eintritt. Beobachtet man dann das Spectrum durch das Fernrohr, so wird ein grösserer oder geringerer Theil desselben fehlen, und es ist mittelst der Scala leicht zu bestimmen, welche Theile desselben durch die Lösung abgehalten werden. Verdünnt man darauf die Farbstofflösung mit Wasser oder einem anderen farblosen Lösungsmittel, so werden bei wiederholter Untersuchung neue Partien des Spectrums sichtbar werden und bei weiter fortgesetzter Verdünnung wird allmälig das ganze Spectrum sich entfalten. Es zeigt sich nun hierbei, dass nur einige Farbstoffe bei weiterer Verdünnung ihrer Lösungen das Spectrum allmälig allseitig oder einseitig weiter und weiter sich entwickeln lassen, während eine grosse Anzahl von Farbstoffen und gerade diejenigen, welche die lebhaftesten Farben zeigen, bei der Verdünnung ein discontinuirliches Spectrum erscheinen lassen, indem sie für bestimmte Stücke des Spectrums sehr kräftige und für nahe dabeiliegende Spectralabschnitte sehr schwache absorbirende Kraft besitzen. Bei gewissen Verdünnungen erscheinen dann ein oder mehrere schmale oder breitere Absorptionsstreifen, auch Spectralbänder genannt, deren Lage und Ausdehnung durch die Scala am Einfachsten bestimmt und mit den Frauenhofer'schen Linien des Sonnenspectrums verglichen oder noch genauer nach dem System der Wellenlängen angegeben werden können.

Spectrophotometrie. Die Untersuchung im Spectrum in der geschilderten Weise giebt vorzügliche Resultate für den sicheren Nachweis einer grossen Zahl von Farbstoffen, besonders des Blutfarbstoffes und einiger seiner Zersetzungsproducte, ferner des Indigo, des Chlorophylls; man hat aber auch vielfach das Spectrum für quantitative Farbstoffbestimmungen verwerthet und zu diesem Zweck verschiedene Combinationen von Appa-

raten benutzt. Hauptsächlich sind hier die Arbeiten von Vierordt[1]) und von Hüfner[2]) zu erwähnen, durch welche diese Apparate vervollkommnet sind[3]).

28. **Untersuchung der Aschen mittelst des Spectrums.** Alle organischen Bestandtheile des Thierkörpers geben in der Flamme des Bunsen'schen Brenners verbrannt Licht, welches durch den Spectralapparat in ein continuirliches Spectrum, wie es der Kohlenstoff selbst bei mässiger Glühhitze liefert, zerlegt wird. Nur die Aschenbestandtheile zeigen ein charakteristisches Verhalten, wenn man dieselben von Kohle sorgfältig gereinigt in die Flamme bringt und das von ihnen ausgehende Licht prüft.

Das zum Oehr umgebogene Ende eines feinen Platindrahtes wird erst in der Flamme des Brenners ausgeglüht, bis es keine leuchtende Flamme mehr ausgiebt, dann schmilzt man in das Oehr eine Perle von der Asche ein, indem man mit dem zum Glühen erhitzten oder ein wenig mit Wasser befeuchteten Drahte etwas von der Asche aufnimmt, an der Oberfläche der Flamme trocknet und etwas sintern lässt. Man stellt nun (Fig. 1) vor dem Spalte *a* des Spectralapparates etwa 5—10 cm davon entfernt einen Bunsen'schen Gasbrenner *k* mit nicht leuchtender Flamme und mit Schornstein versehen so auf, dass 1) die obere Grenze des Schornsteins etwa 2—3 cm tiefer als das untere Ende des Spaltes steht und 2) bei verschlossenen Luftlöchern des Brenners (also hellem Leuchten seiner Flamme) ein möglichst strahlendes Spectrum im Fernrohre sichtbar ist. Man öffnet wieder die Luftlöcher am Brenner, nachdem man die richtige Stellung desselben ausfindig gemacht hat, beleuchtet die Scala in *h* am Spectralapparate und bringt nun die Aschenprobe am Platindrahte *m*, welcher durch ein an ihm angeschmolzenes Glasröhrchen *n* am Stative *f* befestigt ist, in die Flamme, während man durch das Fernrohr beobachtet. Es wird in allen Fällen ein discontinuirliches Spectrum erscheinen, welches stets mehr oder weniger stark leuchtend die gelbe Natriumlinie enthält. Fast in allen Fällen wird sich daneben auch die rothe Kaliumlinie zeigen. Man bestimmt nun die Lage der vorhandenen Linien nach der Scala und findet dann die Lage dieser Linien im Sonnenspectrum, wenn man Sonnenlicht an Stelle des Brennerlichtes in den Apparat eintreten lässt und die Lage der Frauenhofer'schen Linien an der Scala des Apparates abliest. Statt dessen kann man reines Chlorkalium, Chlorcalcium u. s. w. jedes für sich

---

[1]) K. Vierordt, Die Anwendung des Spectralapparates zur Photometrie der Absorptionsspectren etc. Tübingen 1873. Derselbe, Die quantitative Spectralanalyse etc. Tübingen 1876.

[2]) Hüfner, Journ. f. pract. Chemie. N. F. **16**. 290. (1877.)

Derselbe, Zeitschr. f. physik. Chemie. **3**. 562. (1889.)

E. Albrecht, Anleitung zum Gebrauch des Hüfner'schen Spectrophotometers etc. Tübingen 1892.

[3]) G. u. H. Krüss, Kolorimetrie und quantitat. Spectralanalyse etc. Hamburg u. Leipzig 1891.

am reinen Platindrahte in die Flamme des Brenners bringen, die Lage der erscheinenden Linien auf der Scala ablesen und damit die Ergebnisse der Aschenprüfung vergleichen.

An vielen Spectralapparaten befindet sich vor der oberen Hälfte des Spaltes ein dieselbe deckendes kleines Prisma, welches gleichzeitige Beobachtung einer zweiten, seitlich gestellten Flamme oder des Sonnenlichtes gestattet, indem deren Strahlen durch das Prisma gebrochen in den Spalt eintreten und im Uebrigen denselben Weg verfolgen, als die der ersteren Flamme: Es erscheint dann das Spectrum der einen Flamme über, das der anderen unter der Mitte des Gesichtsfeldes im Spectroskop.

Untersuchung der Circumpolarisation*).

29. Während kein einziger in einer Flüssigkeit gelöster oder selbst flüssiger anorganischer Körper optisch activ ist, zeigen bekanntlich eine ganze Reihe von Kohlenstoffverbindungen in Folge einer asymmetrischen Lagerung der Atome in ihrem Molekül rechts- oder linksseitige Circumpolarisation. Solche optisch active (links- und rechtsdrehende) Stoffe finden sich unter den Verbindungen, welche in den Geweben und Flüssigkeiten des thierischen und pflanzlichen Organismus vorkommen, und unter ihren Zersetzungsprodukten der Zahl und der Quantität nach in reichlicher Menge (Eiweissstoffe, Leim, Zuckerarten, Gallensäuren, Aminosäuren u. s. w.). In der Beobachtung der Circumpolarisation hat man einerseits ein schnell anwendbares Mittel, um über die Anwesenheit oder das Fehlen gewisser Gruppen von Stoffen in den zu prüfenden Flüssigkeiten Aufschluss zu erhalten, andererseits ergiebt die Bestimmung der spec. Drehung eines Körpers unter dem Einflusse gewisser Agentien auf diesen Körper eins der sichersten und feinsten Hülfsmittel zur Unterscheidung chemischer Stoffe von einander, sowie zur Beurtheilung der Veränderungen, welche diese Körper unter der Einwirkung gewisser Processe erfahren. Endlich dient die Bestimmung der Circumpolarisation zur schnellen Feststellung des Gehaltes einer Flüssigkeit an dem einen oder anderen optisch-activen Körper, z. B. an Glycose. Die Beobachtung der Circumpolarisation erfordert kaum eine Minute Zeit und bedingt bei einiger Vorsicht keinen Verlust der zu prüfenden Flüssigkeit.

Ein Haupterforderniss für diese Untersuchung ist, dass die Lösungen klar, durchsichtig und möglichst farblos sind; schwach gelbe Färbung thut keinen erheblichen Eintrag an Genauigkeit, wohl aber rothe oder braune Färbung. Die in den einzelnen Fällen zur Entfärbung und Klärung anwendbaren Agentien werden später an den betreffenden Stellen angegeben.

---

*) Eine eingehende Beschreibung der Apparate und Untersuchungsmethoden der Circumpolarisation siehe bei Landolt, Das optische Drehungsvermögen organischer Substanzen. 2. Aufl. Braunschweig 1898.

Mit der zu prüfenden Lösung füllt man die Untersuchungsröhre, deren Länge man nach der Klarheit und Tiefe der Färbung der Flüssigkeit auswählt. Da die Bestimmung um so genauer ausfällt, je länger die vom Lichte duchwanderte Flüssigkeitsschicht ist, verwendet man eine Röhre von möglichster Länge, nach deren Füllung aber beleuchtete Gegenstände beim Hindurchsehen durch die Flüssigkeitsschicht in der Röhre scharf unterschieden werden können. Röhren von 3, 2 und 1 Decimeter Länge des in der Röhre eingeschlossenen Raumes sind die gewöhnlich zu diesen Untersuchungen benutzen. Fig. 2 stellt ein solches Rohr dar. Die Kappen aus Metall, welche auf die Enden der Röhre aufgeschraubt sind, haben eine mindestens 5 mm weite runde Durchbohrung und drücken durch einen



Fig. 2.



Fig. 3.

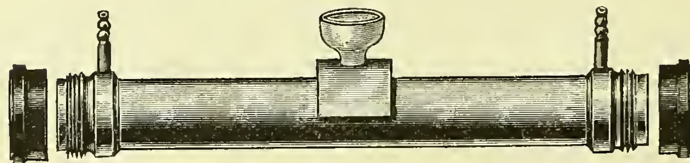


Fig. 4.

eingelegten Kautschukring eine runde Glasplatte gegen den gerade abgeschliffenen Rand der Röhre; sie dürfen nicht zu fest aufgeschraubt werden. Sehr praktisch ist das in Fig. 3 abgebildete Rohr. Man braucht es nicht bis zum Ueberlaufen zu füllen, da eine kleine eingeschlossene Luftblase bei horizontaler Lage des Rohrs in die Erweiterung *a* eintritt und nicht im Gesichtsfeld störend erscheint. Für Beobachtungen bei bestimmter Temperatur ist das mit der Flüssigkeit zu füllende Rohr zweckmässig von einem wasserdicht aufgesetzten weiteren Rohr umgeben (Fig. 4). Durch den Zwischenraum zwischen beiden Rohren circulirt beständig Wasser von bestimmter Temperatur, welches durch das eine Ansatzrohr zu- und durch das andere abfliesst. Der Tubus in der Mitte, welcher in Verbindung mit dem inneren Rohr steht, dient zum Einbringen der Flüssigkeit und zur Aufnahme eines Thermometers.

Sollen die Beobachtungen bei Natriumlicht ausgeführt werden, so benutzt man als Lichtquelle einen von einem weiten innen und aussen geschwärzten Metallcylinder umgebenen Bunsenbrenner (Fig. 5). Durch den unteren Theil des seitlichen Ausschnitts dieses Cylinders wird eine ringförmige Rinne aus Platin, welche mittelst einer horizontal verlaufenden Stange *v* an einer um die vertikale Axe drehbaren Stange *w* befestigt ist, durch Drehen dieser Stange am Trieb *x* in die Flamme geschoben. In der Rinne befindet sich trocknes Kochsalz. Damit herabfallende Kochsalzpartikelchen nicht die Oeffnung des Bunsenbrenners verstopfen, ist diese Oeffnung seitlich bei *y* angebracht, wie aus der Abbildung hervorgeht. Die Lampe ist so aufzustellen, dass nur das Licht aus der obern Abtheilung des Ausschnittes zu dem Apparat gelangt. Ein bedeutend intensiveres Natriumlicht giebt die Landolt'sche Natriumlampe[1]). Als Lichtquelle für weisses Licht dienen Petroleum-, Gas-, Auerlicht- oder elektrische Lampen, bei denen der Glascylinder bezw. die mattirte Birne mit einem Metallcylinder, welcher an passender Stelle eine seitliche Oeffnung zum Durchtritt der Lichtstrahlen hat, umgeben ist (Fig. 8 auf S. 31).

Die besten Polarisationsapparate sind die neuen auf dem Prinzip von Lippich beruhenden Halbschattenapparate, von denen einer in der Ausführung von Landolt (§ 33) beschrieben wird. Von älteren Apparaten wird das im folgenden Paragraphen auseinandergesetzte Polaristrobometer von Wild noch vielfach gebraucht. Für die speciellen Zwecke der Traubenzuckerbestimmung ist das noch in der vorigen Auflage dieses Handbuches aufgeführte Soleil-Ventzke'sche Saccharimeter durch den viel empfindlicheren Halbschattenapparat mit Keilcompensation verdrängt. Derselbe ist im § 34 beschrieben.

Polaristrobometer nach Wild.

30. Fig 5 stellt den Apparat dar. Das von der Natriumflamme ausgehende Licht tritt bei *d* in das Instrument ein, geht in seiner Axe hindurch und trifft bei *a* das Auge des Beobachters. Durch ein Diaphragma bei *d* gelangt das Licht zunächst zu einem Nicol, welcher im Centrum der Scheibe *k* mit dieser zusammen um ihre Axe durch ein Zahngetriebe mittelst des Knopfes *c* drehbar ist. An der Peripherie der Scheibe *k* befindet sich eine Kreistheilung in $1/_5$ Grade getheilt. Das drehbare Nicol'sche Prisma wird gehalten durch den Träger *h*, an welchem andererseits ein kleines Fernrohr, ein Nicol und das Polariskop *a g l*, endlich vor der Kreisscheibe *k* der Indicator *i* befestigt sind. Zwischen Polariskop und drehbarem Nicol ist der Raum für die einzulegenden mit den zu untersuchenden Flüssigkeiten gefüllten Beobachtungsröhren *r*. Der dem Auge des Beobachters zugewandte Theil des Instruments besteht bei *a* aus einem Nicol

[1]) Zeitschr. f. Instrumentenk. 4. 390. (1884.)

und Savart'schem Polariskop (zusammengesetzt aus zwei Kalkspathplatten, die unter 45° gegen die optische Axe des Krystalls geschnitten und mit ihren Hauptschnitten unter 90° gekreuzt auf einander gelegt sind). Dies letztere bewirkt, dass bei der Beobachtung in allen Stellungen der Nicol gegen einander das durch das Instrument gehende Licht horizontale Interferenzstreifen zeigt, wenn nicht die Schwingungsebene des zweiten Nicols parallel oder senkrecht zu derjenigen des in ihn eintretenden Lichtes ist. Am Kopf des Apparates befindet sich ferner, wie bereits angegeben, ein kleines Fernrohr und in dem Rohre an geeigneter Stelle ein Fadenkreuz, dessen Bild bei der Beobachtung genau einzustellen ist. Durch das Fernrohr *b p p s* ferner beobachtet man die Scala der Scheibe *k* und den

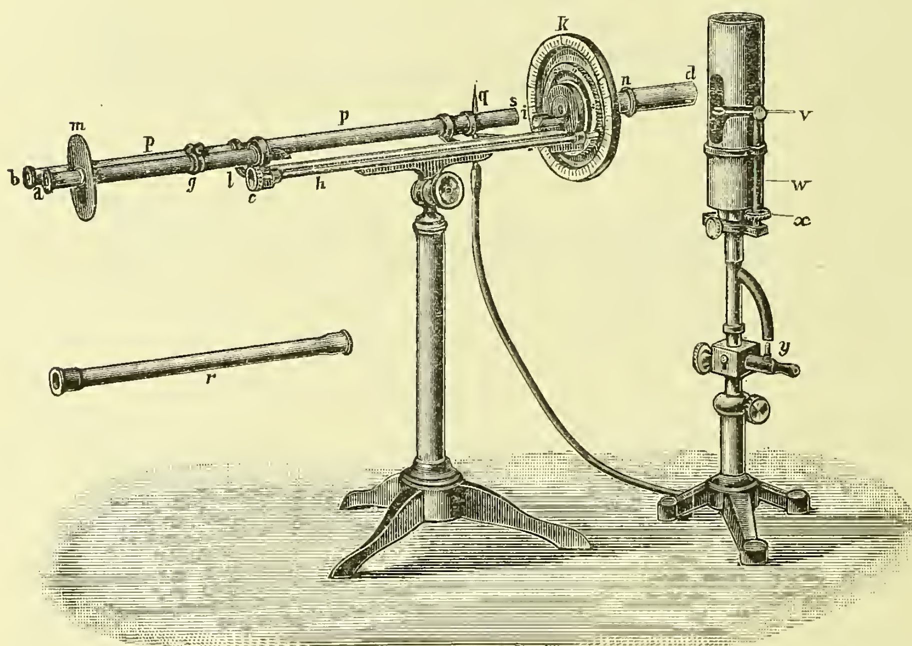


Fig. 5.

Indicator *i*, während von dem Schlitzbrenner *q* die Beleuchtung dieser Scala vermittelst eines schräg gestellten, in der Mitte durchbohrten Metallspiegels, der sich am Ende des Fernrohrs befindet, bewirkt wird. Der Träger *h* ist auf dem Stativ horizontal und vertical drehbar, damit man ihn mit *d* genau auf die Natriumflamme einstellen kann.

Um Beobachtungen mit dem Instrumente auszuführen, richtet man dasselbe zunächst mit dem Ende *d* gegen die Natriumlichtquelle, stellt das Ocular in *a* so ein, dass man das Fadenkreuz scharf sieht, beleuchtet durch die Flamme *q* die Scala und dreht mittelst des Knopfes *c* die Scheibe *k* mit dem analysirenden Nicol. Es zeigen sich schwarze Interferenzstreifen horizontal das Gesichtsfeld durchsetzend, welche bei der Drehung des einen

Nicols bald dunkler, bald wieder heller werden, aber nur dann vollständig aus der Mitte des Gesichtsfeldes verschwinden, wenn die beiden Nicol entweder gleiche Stellung haben oder genau unter 90° gegen einander gekreuzt sind. Fig. 6 erläutert die Erscheinung der Interferenzstreifen und ihr Verschwinden im Gesichtsfelde mit dem Fadenkreuz. Dreht man also den Nicol um seine Axe einmal ganz herum, so verschwinden die Interferenzstreifen 4 Mal entprechend den 4 Quadranten des Kreises. Die Stellung der Nicol, bei welcher die Interferenzstreifen verschwinden, lässt sich an der Kreistheilung genau ablesen.

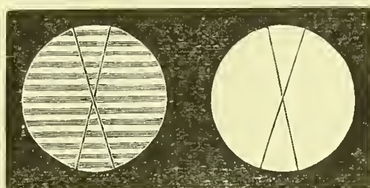


Fig. 6.

Legt man nun, nachdem an der Scala die Stellung festgestellt ist, bei welcher die Interferenzstreifen verschwunden sind, eine mit drehender Flüssigkeit gefüllte Röhre zwischen den drehbaren Nicol und das Polariskop ein, so wird das Verschwinden der Interferenzstreifen nicht mehr bei der Stellung des Nicols stattfinden, bei welcher dies vor Einlegen der Röhre der Fall war. Man sucht jetzt durch Drehung des Knopfes *c* die Stellung des Nicols auf, bei welcher nun die Interferenzstreifen verschwunden sind, liest durch das Fernrohr an der Scala ab, wie weit man nach der einen oder anderen Seite den Nicol hat drehen müssen, um das Verschwinden der Streifen herbeizuführen, und findet in der Differenz der beiden Ablesungen den Winkel der Rotation, welche die Flüssigkeit ausübt. Hat man, um die Interferenzstreifen zum Verschwinden zu bringen, vom Nullpunkt aus bei Rechtsdrehung weniger weit nach rechts als bei Linksdrehung nach links drehen müssen, so handelt es sich in den meisten Fällen um eine rechtsdrehende, im umgekehrten Falle um eine linksdrehende Substanz. Ist man über die Drehungsrichtung im Zweifel (bei stark drehenden Substanzen), so wiederholt man die Polarisationsbestimmung unter Benutzung eines Rohres von der halben Länge.

31. Bestimmung der specifischen Drehung. Die specifische Drehung einer activen Substanz ist diejenige Drehung der Polarisationsebene, welche 1 g in 1 ccm Flüssigkeit gelöst bei einer Rohrlänge von 1 Decimeter bewirkt. Die specifische Drehung bezeichnet man mit $[\alpha]$ und die auf Natriumlicht und eine Temperatur von z. B. 20° sich beziehende mit $[\alpha]^{20^0}_{D}$. Enthält die Flüssigkeit nur eine optisch active Substanz, so ist $[\alpha] = \pm \frac{\alpha}{c. l}$, wobei α den beobachteten Drehungswinkel, c die Menge der Substanz in Grammen, welche in 1 ccm der Lösung bei 20° enthalten sind, und l die Länge des Rohrs in Decimetern bezeichnet.

Handelt es sich darum, die Aenderungen der spec. Drehung bei verschiedenen Concentrationen festzustellen, so ist es nöthig, auch den Gehalt der Substanz in Grammen in 1 g der Lösung (p) und das spec. Gewicht der Lösung (d) bei 20° (bezogen auf Wasser von 4° als Einheit) zu kennen und die spec. Drehung $[\alpha]_{D}^{20^0}$ nach der Formel $\pm \frac{\alpha}{p.\,l.\,d}$ zu berechnen.

Die spec. Drehung der meisten Substanzen ändert sich mit der Concentration der Lösung, mit dem Lösungsmittel und der Temperatur. Die Lösungen mancher Substanzen, z. B. mancher Zucker, zeigen, frisch hergestellt, ein anderes Drehungsvermögen als nach einiger Zeit (Multirotation).

32. Bestimmung des Gehaltes der Flüssigkeit an activer Substanz. Kennt man die specifische Drehung der untersuchten Substanz, weiss man, dass diese sich mit der Concentration nicht oder nur wenig ändert und enthält die Lösung nur diese eine optisch active Substanz, so ergiebt sich aus der Drehungsbestimmung der Gehalt der Lösung an der activen Substanz nach der Formel $c = \frac{\alpha}{[\alpha].\,l}$, worin α die beobachtete Drehung, $[\alpha]$ die specifische Drehung, l die Rohrlänge in Decimetern und c das Gewicht des die Drehung bewirkenden Stoffes in Grammen für 1 ccm Lösung.

Halbschattenpolarimeter mit Lippich's dreitheiligem Polarisator in der Construction von Landolt.

33. Von allen Halbschattenapparaten, welche seit dem von Jellett[1]) nach diesem Princip zuerst construirten Instrument bekannt geworden sind, zeichnen sich die mit Lippich's Polarisator[2]) versehenen Apparate durch die grosse Schärfe, mit welcher sie Bestimmungen auszuführen gestatten, aus. Es sind überhaupt die genauesten aller Polarimeter. Im Folgenden soll eine von H. Landolt[3]) empfohlene, von der Firma Schmidt und Haensch in Berlin ausgeführte Construction beschrieben werden, welche den grossen Vortheil gewährt, dass nicht nur Beobachtungsröhren, sondern auch beliebig gestaltete Beobachtungsgefässe eingeschaltet werden können (Fig. 7).

Was die optische Einrichtung betrifft, so folgt zunächst auf das Diaphragma *S* eine Beleuchtungslinse, dann bei *P* der 3theilige Lippich'sche Polarisator, bestehend aus einem um die Achse des Apparates drehbaren polarisirenden Nicol'schen Prisma, welches das ganze Gesichtsfeld bedeckt und zwei kleinen feststehenden Nicol'schen Prismen (Halbprismen), die hinter dem grossen in symmetrischer Stellung und so angeordnet sind, dass jedes ein äusseres Drittel des Gesichtsfeldes deckt.

---

[1]) Rapports of the British Association. **2.** 13. (1860), vergl. hinsichtlich der übrigen Halbschattenapparate, von denen besonders der von Laurent sehr verbreitet ist, Landolt, Das optische Drehungsvermögen organischer Substanzen u. s. w. Braunschweig, 2. Aufl. 1898.

[2]) Naturwissenschaftl. Jahrbuch Lotos. N.F. **2.** 1880. Prag, Tempsky. Zeitschr. f. Instrumentenk. **2.** 167. (1882.) **14.** 326. (1894.) Wien. Acad. Sitzungsber. **91.** II. 1081 (1885) u. **105.** II. 317 (1896), citirt nach Landolt.

[3]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **28.** 3102. (1895).

Hierdurch wird eine Dreitheilung des Gesichtsfeldes bewirkt*). Das drehbare Prisma lässt sich behufs Aenderung des Winkels zwischen den beiden Polarisationsebenen durch den festschraubbaren Zeiger bei *h* verstellen und die Grösse des Winkels (Halbschatten) an der Scala bei *h* ablesen. Der Winkel beträgt im Allgemeinen 7,5°. Zwischen *P* und *R* werden die Beobachtungsröhren oder -gefässe eingeschaltet. Im Centrum von *R* ist das analysirende Nicol'sche Prisma fest in die drehbare Scheibe eingefügt. Der Rand dieser Scheibe ist in Viertelgrade eingetheilt und durch Nonius in Hundertstelgrade ablesbar eingerichtet. Die Drehung erfolgt durch den Hebel *g* und weiterhin zum Zweck der feinen Einstellung nach Anziehen der Klemme *k* mittelst der Mikrometerschraube *m* und wird gemessen mit

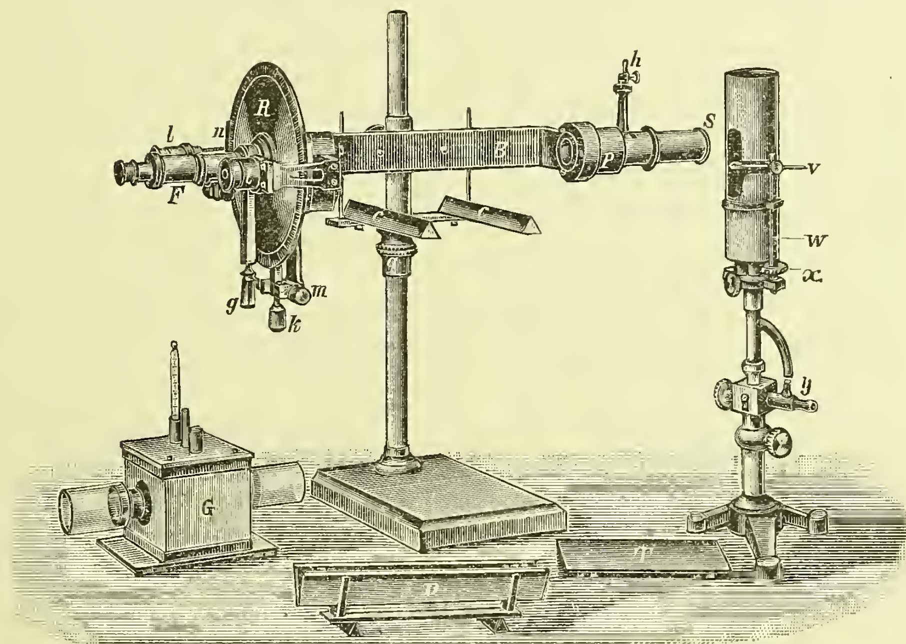


Fig. 7.

Hülfe der beiden feststehenden Nonien *n*, welche mit den Lupen *l* abgelesen werden. *F* stellt ein Fernrohr dar, mit dem man die Grenzlinien des 3theiligen Gesichtsfeldes scharf einstellt.

Die beschriebenen Theile sind auf einer starken eisernen Schiene *B* montirt, welche an einem schweren Stativ verschoben und festgeklemmt werden kann**). Die Führungshülse ist am unteren Ende schraubenförmig

*) Ist nur ein feststehendes Halbprisma vorhanden, welches die eine Hälfte des Gesichtsfeldes deckt, so erhält man ein zweitheiliges Gesichtsfeld. Der dreitheilige Polarisator leistet das Doppelte an Genauigkeit, ist deswegen dem zweitheiligen bei Weitem vorzuziehen.

**) Von hier an ziemlich wörtlich nach Landolt.

gestaltet und mit einer Schraubenmutter *q* versehen, mittelst deren sich eine horizontale Schiene, an welcher die zwei prismatischen Träger *cc* sitzen, emporheben lässt. Sollen die letzteren gesenkt werden, so wird *q* tiefer geschraubt und mit den Fingern auf die Schiene gedrückt. Zwei dünne Stahlstangen, welche durch den hinteren Theil der Hauptschiene *B* gehen, vermitteln die genaue Vertikalführung. Auf die beiden Träger *cc* kann 1. die zum Einlegen von Flüssigkeitsrohren dienende Rinne *D* gesetzt und horizontal verschoben werden, bis die Röhre in der optischen Axe liegt; die zugleich nöthige Vertikaleinstellung bewirkt man mit der Schraube *q*; ferner ist die Rinne *D* auf ihrer Bodenplatte um einen kleinen Winkel verschiebbar; 2. eine ebene unten mit Führungsleisten versehene Messingplatte *T* aufgelegt werden, die als Unterlage für Glaströge dient; 3. der Kasten *G* eingeschaltet werden, ein mit Asbest bekleideter Kasten aus Messingblech, durch welchen eine inwendig vergoldete Messingröhre geht, deren herausragende Enden sich durch gläserne Deckplatten und Ueberwurfsschrauben verschliessen lassen. Ein in die Röhre senkrecht eingelöthetes enges Röhrchen, welches durch den abnehmbaren Deckel des Kastens hindurchgeht, erlaubt die Ausdehnung oder Zusammenziehung der eingefüllten activen Substanz. Ausserdem besitzt der Deckel 2 Oeffnungen für Thermometer und Rührer. Füllt man den Kasten mit einer als Bad geeigneten Flüssigkeit und erhitzt mittelst untergestellten Brenners, so lässt sich das Drehungsvermögen der Substanz bis zu beliebig hohen Temperaturen untersuchen. Werden behufs Beobachtung bei niederer Temperatur Kältemischungen in den Kasten gebracht, so müssen, um den Wasserbeschlag auf der Aussenseite der Deckgläser zu verhindern, an die Ueberwurfsschrauben Glascylinder (aus der Zeichnung ersichtlich) angesteckt werden, welche am Ende mit Platten verschlossen sind und in die man etwas Chlorcalcium gebracht hat.

Ausführung von Bestimmungen. Nach richtiger Aufstellung der Natriumlichtflamme und scharfer Einstellung des Fernrohres *F* auf die Grenzlinien des Gesichtsfeldes wird die Klemme *k* gelöst und nun durch Bewegung des Hebels *g* dem Analysator eine Stellung gegeben, bei welcher die 3 Theile des Gesichtsfeldes annähernd gleiche Beschattung zeigen. Jetzt schraubt man *k* fest, führt durch Drehen der Mikrometerschraube *m* möglichst gleiche Beschattung des Gesichtsfeldes herbei und liest am Rande der Scheibe *R* durch die Lupen an Gradtheilung und Nonius die Stellung ab. Diese Bestimmung wird oft wiederholt, auch das eine Mal von der einen, das andere Mal von der anderen Seite her die Gleichstellung herbeigeführt, schliesslich aus allen Beobachtungen das Mittel berechnet (Nullpunkt). Bei Wiederholung der Versuchsreihe nach Drehung um 180° muss der gleiche Nullpunkt gefunden werden.

Durch Verschiebung des Zeigers *h* an seiner Scala und hierdurch bewirkter Drehung des das ganze Gesichtsfeld deckenden Nicol'schen Prisma kann man erkennen, bei welchem Winkel der Polarisationsebene desselben

zu derjenigen des Polarisators für die herrschende Belichtung die schärfste Bestimmung erzielt werden kann.

Nachdem auf dem beschriebenen Wege die Bestimmung des Nullpunktes mit möglichster Schärfe ausgeführt ist, wird die Röhre mit der zu prüfenden Flüssigkeit eingelegt, das Fernrohr scharf eingestellt und nun die Bestimmung in der angegebenen Weise wiederholt. Die Differenz der beiden Ablesungen ergiebt die Grösse des Winkels, um den die Flüssigkeit nach links oder rechts dreht.

Um den Sinn der Drehung in zweifelhaften Fällen festzustellen, verfährt man nach § 30; desgleichen werden die Berechnungen der spezif. Drehung und des Gehaltes an optisch activer Substanz im bestimmten Volumen einer Flüssigkeit in der in den §§ 31 und 32 angegebenen Weise ausgeführt.

Halbschattenapparat mit Keilcompensation zur Bestimmung des Traubenzuckergehalts nach Schmidt und Haensch (Saccharimeter).

34. Es ist ein Apparat, bei dem zwischen Polarisator und Analysator, die beide festliegen, eine Quarzkeilcompensation eingeschaltet ist und der in Folge dessen bei weissem Licht benutzt werden kann. Er ist ferner so eingerichtet, dass auf der Scala direct der Gehalt der untersuchten Flüssigkeit an Traubenzucker in Prozenten (d. h. Grammen in 100 ccm Flüssigkeit) abgelesen werden kann. Fig. 8 stellt den Apparat dar. Von

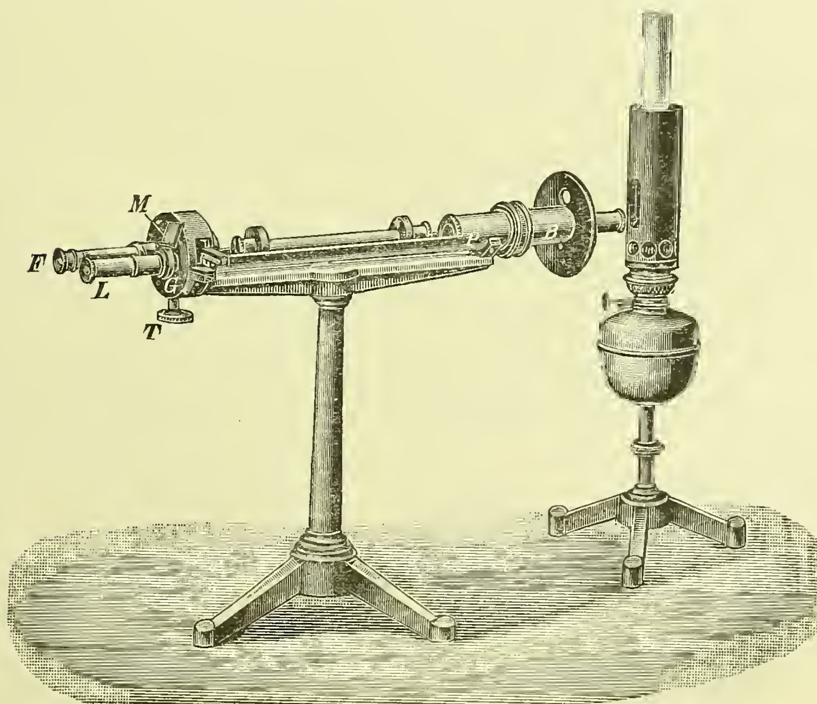


Fig. 8.

der Lampe aus tritt das Licht ein. Bei *B* ist die Beleuchtungslinse, bei *P* das Halbschattenprisma angebracht. In dem Gehäuse *G* befindet sich der Quarzkeil, dessen Verschiebung durch die Schraube *T* an der Scala durch die Lupe *L* ablesbar ist. Die Beleuchtung der Scala erfolgt durch den Spiegel *M*, der sein Licht von der Beobachtungslampe her empfängt. Von der Quarzkeilcompensation geht das Licht zum Analysator und zum Fernrohr *F*. Soll eine Bestimmung ausgeführt werden, so überzeugt man sich zunächst, dass nach richtiger Aufstellung der Lampe und scharfer Einstellung des Fernrohrs bei gleicher Helligkeit der beiden Gesichtshälften, die man durch Drehen an der Schraube *T* herstellt, der Nullstrich der Scala mit dem Nullstrich des Nonius genau zusammenfällt. Ist das nicht der Fall, so muss der Nonius mittelst eines dem Apparat beigegebenen Schlüssels entsprechend verschoben werden. Jetzt wird die Beobachtungsröhre (von 2, 1 oder $^1/_2$ Decimeter Länge) eingelegt und nach Richtigstellung des Fernrohrs an der Schraube *T* bis zur gleichen Helligkeit beider Gesichtshälften gedreht. Bei Benutzung einer 2 Decimeter langen Röhre giebt die Theilstrichzahl der Scala, bei der der Nullstrich des Nonius steht, direkt den Procentgehalt an Traubenzucker an, bei Benutzung einer 1 oder $^1/_2$ Decimeter langen Röhre muss die Zahl mit 2 oder 4 multiplicirt werden.

Untersuchung der Fluorescenz.

35. Fluorescenz in auffallenderem Grade zeigen nur wenige der in höheren Thieren vorkommenden Substanzen. Stark fluoresciren die Lösung der Gallensäuren in concentrirter Schwefelsäure sowie Urobilinlösungen. Eiweisslösungen, Harn u. s. w. lassen schwache Fluorescenz erkennen.

Um eine Flüssigkeit auf Fluorescenz zu prüfen, lässt man Sonnenlicht, durch eine Linse concentrirt, in die Flüssigkeit in der Weise einfallen, dass die Spitze des gebildeten Lichtkegels sich in der Flüssigkeit befindet. Erkennt man den Lichtkegel in der einen oder anderen Farbe leuchtend und bleibt dieses Leuchten unverändert, wenn man den Kegel durch ein Nicol'sches Prisma betrachtet und dies Prisma vor dem Auge um seine Längsaxe herumdreht, so ist die Flüssigkeit fluorescirend. Wird dagegen der leuchtende Kegel bei der Drehung des Nicols dunkler und bei weiterer Drehung wieder heller, so rührt die Zerstreuung des Lichtes nicht von Fluorescenz her, sondern von feinen in der Flüssigkeit suspendirten Theilchen.

II. ABTHEILUNG.

Vorkommen, Darstellung, Eigenschaften und Nachweis der bis jetzt aus dem Thierkörper gewonnenen Stoffe.

---

1. Anorganische Stoffe.

Allgemeines.

36. Jeder Theil eines thierischen oder menschlichen Körpers, sei er eine mit Flüssigkeit imbibirte geformte Masse, wie Fleisch oder Drüsensubstanz, sei er wie z. B. die Secrete eine Flüssigkeit, lässt sich in Wasser und eine Anzahl fester Körper zerlegen. In jedem Organe eines Thieres, in jeder seiner Flüssigkeiten sind C, H, N, O, S in verschiedenen chemischen Combinationen enthalten; alle hinterlassen ferner beim Glühen mehr oder weniger Asche. Die chemischen Stoffe, welche man als Bestandtheile des Körpers kennen gelernt hat, werden in organische und anorganische eingetheilt, je nachdem dieselben Kohlenstoff enthalten oder nicht. Die Aschen können, abgesehen von der Kohlensäure, nie organische Stoffe enthalten, aber sie stellen durchaus nicht immer die Gesammtheit der anorganischen Stoffe dar, welche in der geglühten Substanz enthalten waren, da Ammoniakverbindungen beim Erhitzen leicht verflüchtigt werden, auch Schwefelsäure, Salzsäure, Phosphorsäure, wenn sie nicht mit feuerbeständigen Basen verbunden sind, beim Glühen verdampfen oder sich zerlegen. Die Bildung der Aschen ist sonach zunächst abhängig von dem Vorhandensein solcher Metallverbindungen, die in schwacher Glühhitze nicht flüchtig sind.

Die Betrachtung der anorganischen Stoffe ist der der organischen im Folgenden vorausgeschickt, da sie eine ziemlich gut abgegrenzte Classe bilden, soweit sie die Bestandtheile der Aschen sind. Das Ammoniak und seine Verbindungen bilden dann gleichsam den Uebergang zu den organischen Stoffen, aus denen es bei der Zersetzung derselben fast immer entsteht, wenn diese Stoffe Stickstoff enthalten.

Die Behandlung der einzelnen Stoffe ist weder eine erschöpfende noch eine gleichmässige. Rücksichten auf die analytischen Zwecke waren die in erster Linie maassgebenden.

Die sämmtlichen in diesem Lehrbuche angegebenen Formeln beziehen sich auf die Atomgewichte H = 1,01, C = 12,00, O = 16,00, N = 14,04 u. s. w., vergl. im Anhang Tabelle II.

Alkalimetalle.

Kalium und Natrium finden sich in fast jeder thierischen Asche neben einander; in seltenen Fällen ist auch Lithium nachgewiesen. Die Verbindungen der Alkalimetalle, welche in den thierischen Organen und den daraus gewonnenen Aschen vorkommen, sind sämmtlich in Wasser leicht löslich, werden aus ihren wässerigen Lösungen weder durch kohlensaures noch durch oxalsaures Ammoniak gefällt, sind in der schwachen Rothglühhitze nicht bemerkbar flüchtig, schmelzen dagegen in der Weissglühhitze und verflüchtigen sich dann allmählich unter Nebelbildung. Am flüchtigsten sind die kohlensauren und die Chlorverbindungen, weniger die schwefelsauren und die phosphorsauren Salze dieser Metalle. Am leichtesten flüchtig sind die Kaliumverbindungen, am wenigsten die Natriumverbindungen. Lithium steht in der Mitte.

Vorkommen. 37. **Kalium K.** Kalium befindet sich besonders in der Asche der Muskeln, der rothen Blutkörperchen, der Nerven, des Eidotters, der Milch, des Harns verbunden mit Chlor oder Schwefelsäure oder Phosphorsäure.

Eigenschaften. Fällungsreactionen der Kalisalze:

1. Sie geben in nicht sehr verdünnten Lösungen mit einigen Tropfen Platinchlorid versetzt einen orangegelben fein krystallinischen Niederschlag von Kaliumplatinchlorid, der in Wasser schwer, in Säuren leichter löslich, in Alkohol und Aether fast ganz unlöslich ist. Empfindlichkeitsgrenze bei etwa 0,2—0,3 pCt. K.

2. Sie geben mit Weinsäure einen weissen krystallinischen Niederschlag von saurem weinsauren Kali, wenn die Lösung ziemlich neutral oder von organischen Säuren sauer ist. Das saure weinsaure Kali löst sich in 180 Thl. kaltem Wasser, ist also die Lösung sehr verdünnt, so entsteht kein Niederschlag. Ist die Lösung nicht sehr concentrirt, so bildet sich der Niederschlag nur allmählich; Umschütteln und Reiben mit dem Glasstab beschleunigen seine Bildung. Empfindlichkeitsgrenze bei etwa 0,1 bis 0,2 pCt. K. Abfiltrirt, getrocknet und geglüht giebt dieser Niederschlag einen kohligen Rückstand, der mit Wasser befeuchtet Lacmus stark blau färbt und mit Säuren braust.

3. 10procentige Lösung von Natriumnitrit mit Cobaltchlorid und Essigsäure gemischt giebt mit wässriger Lösung eines Kalisalzes sofort gelben krystallinischen Niederschlag, wenn die Mischung mindestens 0,1 pCt. K enthält; bei geringerem Gehalte gelbe Lösung. Der Niederschlag ist unlöslich in Alkohol.

4. Auf Zusatz von 10procentiger Lösung von Phosphorwolframsäure entsteht in Lösungen, die 0,25 pCt. K enthalten, sofort milchige

Fällung, in Lösungen, die 0,1—0,2 pCt. K enthalten nach 1 bis 2 Minuten, in Lösungen, die 0,05 pCt. K enthalten nach 1 bis 2 Stunden [Wörner][1]).

5. Nicht allzuverdünnte Lösungen werden durch Phosphormolybdänsäure gefällt, der Niederschlag ist gelb und feinpulverig wie phosphormolybdänsaures Ammoniak.

Kaliumverbindungen färben die Flamme violett. Zu dieser Prüfung glüht man zunächst das zum Oehr umgebogene Ende eines reinen dünnen Platindrahtes in der Flamme, bis keine leuchtenden Dämpfe mehr davon ausgehen, taucht ihn dann in die zu prüfende möglichst concentrirte Lösung oder nach Anfeuchten mit einem Tröpfchen Wasser in die Asche selbst, welche zu untersuchen ist, bringt das Oehr des Drahtes in den äusseren Saum der Flamme und beobachtet die davon ausgehende Färbung der letzteren. Ist Kalium fast allein zugegen, so erhält die Flamme über dem Platinöhr die bezeichnete violette Färbung, ist dagegen viel Natrium neben Kalium in der geprüften Substanz, so kann man das intensive Natriumlicht dadurch vom Auge abhalten, dass man die Flamme durch ein tiefblaues Kobaltglas beobachtet. Dies absorbirt das Natriumlicht stark, lässt dagegen das Kaliumlicht wenig geschwächt hindurchgehen.[2]) Die spectralanalytische Untersuchung des Kaliums zeigt helle Linie im Roth bei der Spectrallinie A und Linie im Violett.

Bei allen Untersuchungen auf Alkalimetalle u. s. w. durch Flammenfärbung ist es unerlässlich, dass keine organischen Stoffe, auch keine Kohle in der zu prüfenden Substanz enthalten sind, sowie dass die Flamme mit bläulichem Licht brennt.

Zum Nachweis dienen besonders die oben unter 1., 2. und 4. aufgeführten Reactionen und die Flammenreaction. Nachweis.

38. **Natrium Na.** Natrium befindet sich besonders reichlich im Blutplasma, Harn, Pankreassekret, in der Galle des Menschen und der meisten Thiere, in serösen Transsudaten gebunden an Chlor, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Kohlensäure, und andere organische Stoffe, wie Milchsäure, Harnsäure u. s. w. Vorkommen.

Reactionen der Natronsalze: Eigenschaften.

1. Selbst die concentrirten Lösungen von Natriumverbindungen werden durch Platinchlorid, Weinsäure, Phosphorwolframsäure oder Phosphormolybdänsäure nicht gefällt.

2. Eine frisch bereitete Lösung von antimonsaurem Kali giebt in nicht sehr verdünnten, neutralen oder schwach alkalischen Lösungen von Natronsalzen einen weissen krystallinischen Niederschlag von antimonsaurem Natron. Umschütteln und Reiben beschleunigt seine Bildung. Dieser

---

[1]) Ber. d. deutsch. pharmaz. Ges. **10**. 4. (1900.)

[2]) Cartmell, Philos. Magaz. Novbr. 1858.

Niederschlag löst sich in 300 bis 400 Thl. kaltem, leichter in heissem Wasser.

Bringt man eine natriumhaltige Substanz in die Flamme in gleicher Weise, wie es § 37 bezüglich der Prüfung auf Kalium angegeben ist, so entsteht eine strahlend gelbe Flammenfärbung. Diese Reaction ist so scharf, dass nicht mehr sichtbare Staubtheilchen am Platinöhr diese Färbung deutlich erkennbar erzeugen, wenn gleich sehr vorübergehend. Ist in einer Substanz Natrium in nicht zu geringer Spur enthalten, so tritt dauerndes und intensiv strahlendes Leuchten ein. Die spectralanalytische Untersuchung zeigt gelbe Linie auf der Linie D. Beleuchtet man mit der gelben Natriumflamme Krystalle von saurem chromsaurem Kali oder eine mit Quecksilberjodid bestrichene Papierfläche, so erscheinen erstere farblos, letztere weiss.

Nachweis. Zum Nachweis dient die Reaction mit antimonsaurem Kali und die Flammenreaction.

Lithium Li. Lithium ist mittelst Spectralanalyse in Fleisch, Blut und Milch von Thieren, die lithiumhaltiges Futter genossen, einige Male in Spuren nachgewiesen.

Es färbt die Flamme intensiv roth, wenn es auf die oben § 37 geschilderte Weise im Oehr des Platindrahtes geprüft wird.

Zur Prüfung einer Asche auf Spuren von Lithium fällt man zuerst durch Barytwasser die Phosphorsäure, filtrirt und fällt im Filtrate den Baryt durch verdünnte Schwefelsäure, erwärmt auf dem Wasserbade, filtrirt, dampft das Filtrat ein und erhitzt den Rückstand zur Entfernung der freien Schwefelsäure, indem man zuletzt einige Stückchen kohlensaures Ammoniak in den Tiegel bringt. Nach dem Erkalten laugt man die Masse mit absolutem Alkohol aus, filtrirt, dampft ein und prüft den Rückstand mittelst Spectralanalyse. Helle Linie ungefähr auf der Mitte zwischen den Spectrallinien des Sonnenspectrums B und C.

Erdalkalimetalle.

Calcium und Magnesium finden sich fast in allen Theilen der thierischen Organe. Strontium kommt gleichfalls bei Fütterung mit Strontium enthaltenden Nährstoffen vor. Calcium und Magnesium unterscheiden sich von den Alkalimetallen durch die Unlöslichkeit ihrer neutralen kohlensauren und phosphorsauren Salze in Wasser und grössere Feuerbeständigkeit.

Vorkommen. 39. **Calcium Ca.** In Knochen und Zahnsubstanzen reichlich abgelagert, in geringerer Menge in jeder thierischen Flüssigkeit, in vielen pathologischen Produkten, Verkalkungen an Arterien, im Knorpel, in Tuberkelmassen, in Venensteinen, Harn-, Gallen-, Speichel-, Pancreassteinen reichlich. Das Calcium betrachtet man in diesen Ablagerungen als gebunden an Phosphorsäure, Kohlensäure, Chlor, Fluor, in den Lösungen als gebunden an Phosphorsäure oder Kohlensäure (als saure Salze) oder organische Säuren, in den Faeces als gebunden an Schwefelsäure und organische Säuren, sowie Kohlensäure und Phosphorsäure.

Eigenschaften. Kalksalze werden gefällt:

1. Durch Oxalsäure oder oxalsaures Ammoniak in neutralen,

alkalischen oder durch Essigsäure sauren Lösungen. Der weisse, sehr feinkörnige, zuweilen schwer filtrirbare Niederschlag, oxalsaurer Kalk, ist unlöslich in Wasser oder Alkohol, wird beim vorsichtigen Glühen ohne Verkohlung in kohlensauren Kalk, beim heftigen Weissglühen in Calciumoxyd verwandelt.

2. Durch neutrale kohlensaure Alkalien in neutraler oder alkalischer Lösung. Der feine, weisse Niederschlag, kohlensaurer Kalk, ist leicht löslich in Säuren unter Aufbrausen. Saure kohlensaure Alkalien fällen die Kalksalze nicht oder nicht vollständig, dagegen entsteht nach ihrem Zusatz ein Niederschlag beim längeren Kochen der Mischung.

3. Durch phosphorsaures Natron in neutraler oder alkalischer Lösung. Der weisse, flockige, gallertartige Niederschlag, phosphorsaurer Kalk, ist leicht löslich in Säuren, auch in citronensaurem Ammoniak, unlöslich in Alkalien.

4. Durch Schwefelsäure oder schwefelsaure Salze in nicht zu verdünnten wässerigen, vollständig in alkoholischen Lösungen. Der bald krystallinisch werdende Niederschlag, schwefelsaurer Kalk, ist löslich in 400 bis 500 Theilen Wasser, etwas leichter in Säuren oder concentrirten Salzlösungen, unlöslich in Alkohol.

Die salpetersauren und Chlorverbindungen des Calciums oder andere Kalksalze mit Salzsäure befeuchtet färben die Flamme gelbroth. Die spectralanalytische Untersuchung zeigt mehrere Linien im Grün und Orange und eine Linie im Violett.

Zum Nachweis dient besonders die unter 1. aufgeführte Reaction. Nachweis.

40. **Magnesium Mg.** findet sich in geringer Quantität als fast steter Begleiter des Calciums in thierischen Organen; reichlich ist es gewöhnlich im Harne, auch in den Faeces enthalten, fast stets in Verbindung mit Phosphorsäure, oft als phosphorsaure Ammoniak-Magnesia in Krystallen (fauler Harn, Faeces etc.). Vorkommen.

Die Lösungen der Magnesiumverbindungen werden durch schwefelsaure oder oxalsaure Alkalisalze aus verdünnten Lösungen nicht gefällt, dagegen treten Fällungen ein: Eigenschaften.

1. Bei Gegenwart von Chlorammonium durch Ammoniak und phosphorsaures Natron als allmählich entstehender krystallinischer, in reinem Wasser sehr wenig, in Säuren, auch in Essigsäure leicht löslicher weisser Niederschlag, phosphorsaure Ammoniak-Magnesia. Derselbe ist unlöslich in citronensaurem Ammoniak.

2. Durch kohlensaures Natron in neutraler Lösung bei Abwesenheit von Ammoniakverbindungen. Die Fällung ist nur durch Kochen der Mischung vollständig zu erhalten. Der bei gewöhnlicher Temperatur dargestellte weisse gallertige Niederschlag ist basisch kohlensaure Magnesia. Saure kohlensaure Alkalien fällen Magnesiasalze gar nicht; durch kohlen-

saures Ammoniak werden sie theilweise gefällt und bei Gegenwart von Chlorammonium tritt erst sehr spät schwache Fällung ein.

3. Durch Alkalien, Kalk- oder Barytwasser wird aus Lösungen der Magnesiasalze Magnesiumhydroxyd als flockiger weisser Niederschlag ausgeschieden.

Nachweis. Zum Nachweis dient besonders die unter 1. aufgeführte Reaction.

Schwermetalle.

Vorkommen. 41. **Eisen Fe.** Eisen findet sich im rothen Farbstoffe des Blutes der Wirbelthiere, daher relativ reichlich als Eisenoxyd in der Asche des Blutes, welche durch dasselbe röthlich gefärbt erscheint. Ausser dem Blut ist besonders die Galle noch eisenhaltig, doch ist die Quantität hier schon sehr unbedeutend. Kleine Mengen finden sich in Leber, Milz, Lymphdrüsen, reichlicher (Ablagerungen von Ferrihydrat) unter pathologischen Verhältnissen. In den übrigen thierischen Flüssigkeiten und Geweben zeigen sich kaum Spuren davon, so z. B. im Harne. Im Inhalte des Darmcanals kann es sich reichlich finden, da die Speisen fast stets eisenhaltig sind.

In Leichen hat sich theils im Darmcanale, theils in verschiedenen Organen oft Vivianit, phosphorsaures Eisenoxydoxydul, gefunden, das einer Zersetzung der organischen Stoffe durch Fäulniss und Reduction des Eisenoxydes wohl stets seine Entstehung verdankt.

Bei der Prüfung auf Eisen hat man sehr darauf zu achten, dass die Reagentien und das benutzte Filtrirpapier eisenfrei seien, und dass kein Staub Eisenpartikel in die Flüssigkeit trägt.

Eigenschaften. Das Eisen ist in den hier in Betracht kommenden Verbindungen durchaus nicht flüchtig in der heftigsten Weissglühhitze; trotzdem kann es bei Veraschungen leicht geschehen, dass durch die entweichenden Gase wägbare Quantitäten von Eisenoxyd fortgerissen werden (§ 10). In den Aschen findet sich das Eisen nach völligem Verbrennen der Kohle stets als Eisenoxyd frei oder an Phosphorsäure gebunden.

Lösungen, welche das Eisen als Ferriverbindung enthalten, werden gefällt:

1. Durch Alkalien oder kohlensaure Alkalien. Der flockige, rothbraune, gallertige Niederschlag, welcher Alkali enthält, besteht aus Ferrihydrat, ist unlöslich in überschüssigem Alkali und verwandelt sich beim Erhitzen in pulveriges Eisenoxyd. Befindet sich in der Lösung Weinsäure in hinreichender Menge, so tritt diese Fällung nicht ein.

2. Durch Schwefelammonium in neutraler oder alkalischer Lösung (auch bei Gegenwart von Weinsäure). Der schwarze Niederschlag (grüne Färbung bei starker Verdünnung) besteht aus Schwefeleisen; der Bildung des letzteren geht eine Reduction des Oxydes zu Oxydul voran, bei der zugleich Schwefel abgeschieden wird. Das Schwefeleisen ist leicht zerlegbar durch Mineralsäuren, wird an der Luft roth durch Oxydation zu basisch

schwefelsaurem Eisenoxyd. In Schwefelammonium ist das Schwefeleisen völlig unlöslich.

3. Durch Ferrocyankalium in neutraler oder salzsaurer Lösung. Der blaue Niederschlag, Berliner Blau, wird durch Alkalien in Ferrihydrat und Ferrocyanmetall zerlegt.

4. Durch Gallustinctur in neutraler Lösung schwarz (Dinte).

5. Durch phosphorsaures Natron in neutraler oder essigsaurer Lösung. Der gelblichweisse, flockige Niederschlag, phosphorsaures Eisenoxyd, ist unlöslich in Essigsäure, etwas löslich in überschüssigem Ammoniak, phosphorsaurem Natron oder essigsaurem Eisenoxyd.

6. Durch Kochen mit essigsaurem Natron in neutraler Lösung; der rothbraune Niederschlag ist basisch essigsaures Eisenoxyd.

Durch Schwefelcyankalium werden selbst sehr verdünnte Lösungen von Eisenoxyd schön blutroth gefärbt, wenn die Lösung etwas freie Salzsäure enthält.

Schwefelwasserstoff fällt Eisen aus seinen Lösungen in verdünnten Mineralsäuren nicht, reducirt aber beim Erwärmen das Oxyd zu Oxydul unter Abscheidung von Schwefel. Metallisches Zink reducirt das Eisenoxyd in salzsaurer Lösung schnell zu Oxydul.

Zum Nachweis dienen besonders die Reactionen mit Ferrocyankalium und mit Schwefelcyankalium. Nachweis.

42. **Mangan Mn.** Mangan findet sich zuweilen in geringen Spuren als Begleiter des Eisens in der Blutasche und in der Asche der Galle, doch ist sein Vorkommen in diesen Aschen durchaus nicht constant. Vorkommen.

Es ist in den in Betracht kommenden Verbindungen durchaus nicht flüchtig in der heftigsten Weissglühhitze. Es wandelt sich beim Glühen, wenn die übrigen Bestandtheile seiner Verbindungen flüchtig sind, in Oxyduloxyd um und so, meint man, sei es auch in den Aschen enthalten; ist jedoch Alkalicarbonat zugegen, so geht es beim Glühen an der Luft in Mangansäure über. Die wässrige Alkalimanganat enthaltende Lösung der Asche färbt sich bald roth und scheidet einen flockigen Niederschlag von Manganhyperoxydhydrat ab. Eigenschaften.

Das Manganoxydul wird aus seinen Lösungen gefällt:

1. Durch Alkalien als weisses Hydrat, welches an der Luft schnell in braunes Oxyduloxydhydrat übergeht. Durch Ammoniak wird das Oxydul bei Gegenwart von Ammoniaksalzen und Ausschluss der Luft nicht gefällt.

2. Durch Schwefelammonium in concentrirter Lösung sogleich, in verdünnter allmählich als gelblicher oder fleischrother Niederschlag, Schwefelmangan, welcher in Schwefelammonium unlöslich ist, an der Luft bald braun wird durch Umwandlung in Oxyduloxydhydrat. Bei Gegenwart von viel Ammoniak ist Mangan aus verdünnten Lösungen durch Schwefelammonium schwer fällbar.

3. Durch kohlensaure oder phosphorsaure Alkalien, weisser Niederschlag.

Zum Nachweis dienen folgende Reactionen: Nachweis.

1. Eine Probe einer manganhaltigen Substanz mit etwas trockner Soda und Salpeter auf Platinblech heftig geglüht, giebt eine blaugrüne geschmolzene Masse (mangansaures Alkali), sehr scharfe und sichere Probe. 2. Erhitzt man eine manganhaltige Substanz mit etwas syrupöser Phosphorsäure und Salpeter im Porzellantiegel, so erhält man eine schöne, violette, geschmolzene Masse von phosphorsaurem Manganoxyd.

3. Bringt man in einem Probirröhrchen auf etwas Bleihyperoxyd oder Mennige etwas von einer chlorfreien manganhaltigen Flüssigkeit, fügt verdünnte Salpetersäure hinzu und erhitzt zum Sieden, so tritt schöne violette Färbung der Flüssigkeit durch gebildete Uebermangansäure ein*) (Hoppe-Seyler's Probe).

Vorkommen. 43. **Kupfer Cu.** Das Vorkommen von Kupfer in Leber und Galle der Menschen und Säugethiere ist fast constant, im Blute von Menschen ist es öfter in Spuren nachgewiesen; im Blute einiger Krebs- und Schneckenarten, auch im Blute von manchen Cephalopoden und Gastropoden ist es reichlich und constant gefunden. In welcher Verbindung das Kupfer in diesen thierischen Theilen sich befindet, ist unbekannt; im Blut der genannten niederen Thiere findet es sich im Farbstoff (Haemocyanin).

Eigenschaften. Bei Darstellung der Aschen kupferhaltiger organischer Massen durch Glühen bei Luftzutritt wird es stets als Oxyd gewonnen. Die Lösungen des Kupferoxydes werden gefällt:

1. Durch Alkalien bei gewöhnlicher Temperatur als gelatinöser, flockiger, blauer Niederschlag, Kupferoxydhydrat. Dieser Niederschlag entsteht nicht bei Gegenwart von viel Ammoniak oder gewissen organischen Stoffen. Das Oxydhydrat verwandelt sich beim Kochen der Flüssigkeit, in der es suspendirt ist, in schwarzes, feinflockiges oder pulveriges Oxyd.

2. Durch Schwefelwasserstoff in verdünnter, saurer, neutraler Lösung als schwarzes, flockiges, in Wasser (nach Oxydation zu Kupfersulfat) oder Schwefelammonium ein wenig lösliches Schwefelkupfer.

3. Durch kohlensaures Natron als grünlich blaues, basisch kohlensaures Kupferoxyd.

4. Durch Ferrocyankalium als kapuzinerbraunes Ferrocyankupfer (in sehr verdünnter Lösung entsteht nur braune Färbung derselben).

5. Durch metallisches Eisen oder Zink als metallisches Kupfer, welches das in die Lösung gestellte Eisen- oder Zinkstück als cohärente Schicht überzieht.

6. Durch Traubenzucker in alkalischer Lösung bei Abwesenheit von Ammoniak in der Wärme als gelbes Kupferoxydulhydrat oder rothes Kupferoxydul.

Ammoniak oder kohlensaures Ammoniak bewirken in neutralen oder sauren Lösungen zunächst Niederschläge, beim Zusatz eines Ueberschusses jedoch eine noch bei geringem Kupfergehalte der Lösung bemerkbare blaue Färbung der wieder klar gewordenen Flüssigkeit durch gelöstes Kupferoxydammoniak.

Alle Kupfersalze färben besonders nach Zusatz von etwas Salzsäure die Flamme schön grün.

Nachweis. Selbst aus den verdünntesten Lösungen wird Kupfer durch Electrolyse am positiven Pol abgeschieden. Ueber den electrolytischen Nachweis siehe den nächsten Paragraphen.

Vorkommen. 44. **Blei Pb.** Blei ist hier und da im Blut in Spuren nachgewiesen, zuweilen auch in der Leber. Bei Bleikrankheiten ist es in Knochen, Muskeln, Leber, Harn gefunden.

Eigenschaften. Seine Lösungen werden gefällt:

1. Durch Alkalien als weisses, im Ueberschuss lösliches Bleioxydhydrat.

2. Durch Schwefelwasserstoff aus nicht zu saurer Lösung als schwarzes in Schwefelammonium unlösliches Schwefelblei.

3. Durch Natriumcarbonat als weisses basisches Bleicarbonat (Bleiweiss).

4. Durch Salzsäure nur aus conc. Lösungen als in heissem Wasser reichlich lösliches weisses Chlorblei.

5. Durch Schwefelsäure auch aus verdünnten Lösungen als weisses Bleisulfat.

6. Durch Kaliumchromat als gelbes Bleichromat, durch Jodkalium als gelbes Jodblei.

---

*) Die Probe gelingt in der beschriebenen Ausführung nur bei Anwesenheit von sehr wenig Mangan.

Gegen die Electrolyse verhält es sich ebenso wie Kupfer. Nachweis.

Zum Nachweis von Kupfer oder Blei in Flüssigkeiten oder Organen bedient man sich mit Vortheil der Electrolyse: Man mischt die zu prüfende Substanz, die möglichst mechanisch vorher zu zerkleinern ist, in einer Porzellanschale mit verdünnter Salzsäure und trägt unter Erhitzen der Mischung auf dem Wasserbade allmählich kleine Portionen chlorsaures Kali ein, so lange bis die Flüssigkeit hellgelb geworden ist und die organischen Stoffe nur gelblichweisse, flockige oder faserige Massen hinterlassen haben. Man filtrirt jetzt ab, wäscht den Niederschlag einige Male mit heissem Wasser aus und engt die Flüssigkeit im Wasserbade auf ein kleines Volumen ein (färbt sie sich dabei dunkelbraun, so fügt man noch ein wenig chlorsaures Kali hinzu). Man giesst dann die concentrirte, noch saure Lösung in eine Flasche, deren Boden abgesprengt und durch ein wasserdicht übergebundenes Stück gutes vegetabilisches Pergament ersetzt ist, und hängt diese Zelle in einem Becherglase von etwas grösserem Durchmesser, welches mit verdünnter Schwefelsäure zum Theil gefüllt ist, so auf, dass das Niveau der Flüssigkeit in der Zelle und dem Becherglase ungefähr gleich hoch steht, bringt ein Stück Platinblech an einem hinreichend starken Platindraht befestigt in der Weise unter den Pergamentboden der Zelle, dass es horizontal und ziemlich dicht an dem Boden anliegt, ein gleiches mit Platindraht verbundenes Platinblech in die Zelle ein, so dass es horizontal über dem Pergament liegt, und verbindet den ersteren Draht mit dem positiven, den letzteren mit dem negativen Pole einer galvanischen Batterie von etwa 4 Grove-schen oder Bunsen'schen Elementen. Sofort soll sich Entwickelung von Gasen an beiden Electroden einstellen; ist sie zu stürmisch, so schaltet man ein Element fürs Erste aus. Man lässt etwa 6 Stunden den Strom in Thätigkeit (ist die Quantität der Flüssigkeit gross, etwas länger, ist sie klein, so sind ein paar Stunden völlig ausreichend), unterbricht dann die Leitung, nimmt Platindraht und Blech aus der Zelle, spült ein paar Male mit destillirtem Wasser ab und stellt sie dann in ein Probirglas in verdünnte Salpetersäure, erhitzt zum Kochen, giesst die Lösung ab und verdunstet in einer kleinen Schale auf dem Wasserbade. Ist Blei vorhanden, so giebt der Rückstand mit einem Tropfen verdünnter Schwefelsäure einen weissen Niederschlag, der abfiltrirt, mit dem Filter getrocknet und mit Soda auf Kohle mittelst des Löthrohrs zum Schmelzen erhitzt reguliniscbes Blei giebt, welches durch Waschen, Schlemmen mit Wasser in einer Reibschale gereinigt und durch Reiben zum Blech ausgewalzt wird. Ist dagegen Kupfer zugegen, so giebt der obige Rückstand auch nach dem Zusatz von Schwefelsäure (behufs Prüfung auf Blei) mit Ammoniak im Ueberschusse dunkelblaue Lösung und nach dem Verdunsten dieser Lösung und Ansäuern mit Salzsäure mit Ferrocyankalium einen braunen Niederschlag. Schon beim Herausnehmen der Electrode aus der Zelle erkennt man, ob eine Ablagerung eines rothen oder grauen Metalls stattgefunden hat. Die oben angegebenen Reactionen der Metalle dienen zur weiteren Bestätigung*).

45. **Quecksilber Hg.** Nach langem Mercurgebrauch findet sich Quecksilber in Leber und Harn der Menschen, wenn auch nicht constant. Vorkommen.

Man kann sich zu seinem Nachweis derselben Methode bedienen, wie sie im vorigen Paragraphen für Kupfer und Blei vorgeschrieben ist, nur mit dem Unterschiede, dass bei der Electrolyse ein kleines Goldblättchen als negative Electrode in die Zelle gesenkt wird. Hat sich nach 6—24stündiger Einwirkung des Stromes das Goldblättchen heller gefärbt, so ist die Anwesenheit des Quecksilbers wahrscheinlich. Man unterbricht nach der angegebenen Zeit den Strom, wäscht das Goldblättchen Nachweis.

*) Eingehende Untersuchungen und Vergleichung der Methoden zum Nachweis von Blei, Kupfer, Quecksilber siehe V. Lehmann, Zeitschr. f. physiol. Chemie. **6.** 1 u. 528. (1881—1882.)

mit einigen Tropfen Wasser, bringt es mit seinem zusammengebogenen Zuleitungsdraht in ein enges Glasrohr, welches am anderen Ende in ein Capillarrohr ausgezogen ist, und schmilzt dann das weitere Ende der Röhre zu, so jedoch, dass das Goldblättchen selbst in diesem zugeschmolzenen Theil der Röhre sich befindet, und hat sich nach etwa 5 Minuten ein Beschlag im kälteren Theile der Röhre gebildet, so treibt man diesen in das Capillarrohr, erhitzt nochmals das Gold und treibt das etwa noch entwickelte Quecksilber gleichfalls in das Capillarrohr. Dann schmilzt man den Theil der Röhre, welcher das Goldblättchen enthält, ab, indem man die Röhre in der Flamme etwas auszieht, lässt erkalten, schneidet die ausgezogene Spitze ab und bringt ein wenig Jod in das Röhrchen, schmilzt dann wieder zu und treibt durch Erwärmen das Jod zu dem Beschlag im Innern des Röhrchens, den man für Quecksilber hält. Erscheinen dabei ausser braunen auch noch rothe und gelbe Ringe (Jodquecksilber), welche durch Erhitzen leicht weggetrieben, sich an anderen Orten des Röhrchens wieder niederschlagen, so zeigt dies mit Sicherheit das Vorhandensein von Quecksilber an, und diese Reaction ist so fein, dass sie selbst eintreten kann, wenn der Quecksilberbeschlag im Röhrchen nicht deutlich sichtbar ist.[1])

Ein viel einfacheres Verfahren, bei dem das Quecksilber durch Schütteln mit Zinkstaub abgeschieden wird, ist von Ludwig[2]) angegeben.

Säuren.

Vorkommen. 46. **Chlorwasserstoff HCl.** Chlor findet sich gebunden an Kalium oder Natrium in fast allen Theilen des thierischen und menschlichen Körpers; nur im Magensafte ist bei Menschen und Säugethieren freie Salzsäure oder an organische Stoffe gebundene nachgewiesen. Besonders reichlich sind Chlormetalle, abgesehen vom Magensafte, im Blutserum, in Transsudaten und im Harne enthalten.

Eigenschaften. Der Chlorwasserstoff ist ein farbloses, mit Wasserdampf oder mit Ammoniakgas weisse Nebel bildendes Gas. Eine mehr oder weniger gesättigte Lösung dieses Gases in Wasser ist die bekannte Salzsäure. Durch stark oxydirende Substanzen, z. B. durch Manganhyperoxyd, wird der Chlorwasserstoff in Chlor und Wasser umgewandelt. Die Verbindungen mit Alkalien sind leicht löslich in Wasser, krystallisiren im regulären Systeme, meist als Würfel, in unreinen Lösungen auch in Octaëder-, Pyramidenwürfel- und Tetraëderform. Chlorkalium sowie Chlornatrium schmelzen in der Weissglühhitze und verflüchtigen sich dann, das Chlorammonium sublimirt bereits unter der Rothglühhitze, ist aber bei 100° nicht bemerkbar flüchtig. Chlorkalium und Chlornatrium sind sehr schwer löslich in absolutem Alkohol, leichter in verdünntem, unlöslich in Aether. Chlorammonium ist leichter löslich in Alkohol, auch etwas löslich in Aether. Durch freie Schwefelsäure werden diese Salze in freien Chlorwasserstoff und schwefel-

---

[1]) Im Wesentlichen nach Schneider: Ueber das chemische und electrolytische Verhalten des Quecksilbers u. s. w. Sitzungsberichte der Wiener Akademie der Wissenschaft. **40.** 239. (1860).

[2]) E. Ludwig und A. Mayer, Wien. med. Jahrbücher 1877 und 1880. Vergl. Paschkis, Zeitschrift f. physiol. Chem. **6.** 495. (1881—1882).

saure Salze umgewandelt, durch Abdampfen und Erhitzen mit viel Salpetersäure in salpetersaure Salze. Chlorcalcium und Chlormagnesium sind sehr hygroskopisch, leicht löslich in Wasser oder Alkohol, nicht in Aether; beim heftigen Erhitzen verliert das letztere Chlorwasserstoff und die wässrige Lösung des Rückstandes reagirt alkalisch.

Die Lösungen der salzsauren Salze werden gefällt:

1. durch salpetersaures Silber. Der weisse, besonders beim Erwärmen sich käsig absetzende Niederschlag von Chlorsilber ist unlöslich in Salpetersäure, löslich in Ammoniak, färbt sich am Licht grauviolett,

2. durch Quecksilberoxydulsalz. Der weisse Niederschlag von Calomel färbt sich mit Ammoniak schwarz,

3. durch Bleisalze. Der weisse Niederschlag von Chlorblei löst sich schwer in kaltem, leicht in heissem Wasser.

Zum Nachweis dient die Reaction mit Silbernitrat und das Verhalten des Chlorsilbers gegen Salpetersäure und Ammoniak. Nachweis.

Jodwasserstoff HJ. Jod kommt in unbekannter organischer Bindung in der Schilddrüse von Menschen und Thieren und in einigen niederen Thieren, z. B. Schwämmen vor. Als Jodalkali erhält man es beim Veraschen dieser Gewebe mit Alkalien und Salpeter.

Lösungen von Jodiden werden durch salpetersaures Silber unter Bildung von gelbem in Ammoniak und Salpetersäure unlöslichem Jodsilber gefällt. Versetzt man sie mit Chlorwasser oder mit Kaliumnitrit und Salpetersäure und schüttelt mit Chloroform, so färbt sich letzteres violett.

47. **Fluorwasserstoff HFl.** Fluor findet sich in meist zweifelhaften Spuren im Blute, in der Milch, im Harne; gut nachweisbar in den Knochen und Zahnsubstanzen. Man nimmt an, dass es hier stets an Calcium gebunden sei. Vorkommen.

Fluormetalle werden durch concentrirte Schwefelsäure unter Freiwerden von Fluorwasserstoff zerlegt, der gasförmige Fluorwasserstoff greift Glas an, indem er Fluorsilicium, Fluormetall und Wasser bildet. Eigenschaften.

Um Flüssigkeiten oder Gewebe auf Fluor zu prüfen, trocknet man sie, verascht den Rückstand, extrahirt die Asche, wenn sie viel lösliche Salze enthält, mit Wasser, ohne jedoch viel auszuwaschen. Den Rückstand kann man nach folgenden beiden Methoden untersuchen. Nachweis.

1. Man bringt ihn in einen Platintiegel, giesst einen Ueberschuss concentrirter Schwefelsäure darauf und bedeckt den Tiegel sofort mit einem in folgender Weise vorbereiteten Uhrglase. Man überzieht ein solches Uhrglas an der convexen Seite mit geschmolzenem Wachs in dünner Schicht, und gravirt in diesen Ueberzug mittelst eines spitzen Hölzchens einen Buchstaben in der Weise, dass in dieser Gravirung die spiegelnde Glasfläche entblösst ist. Man bedeckt mit diesem Glase, die convexe Seite nach unten, den Tiegel, doch darf es die Flüssigkeit im Tiegel nicht berühren, bringt oben in seine Höhlung einige Tropfen Wasser und erwärt den Tiegel auf etwa 40°. Indem man zuweilen die Masse im Tiegel mit einem Pla-

tindrahte umrührt, lässt man 24 Stunden stehen, entfernt dann durch Schmelzen des Wachses und Waschen mit Petroleum den Wachsüberzug, trocknet das Glas und beobachtet, ob der in den Wachsüberzug gravirte Buchstabe auf der Glasfläche aufgeätzt erscheint, und wenn er nicht sichtbar ist, ob er beim Anhauchen des Glases zum Vorschein kommt.

2. In noch empfindlicherer und bei Anwesenheit sehr kleiner Fluormengen einwandfreierer Weise geschieht der Nachweis durch Ueberführung des Fluors beim Erhitzen mit Kieselsäure und conc. Schwefelsäure in $SiFl_4$ und Zerlegung dieses Gases durch Wasser (man bringe einen mit Wasser befeuchteten Glasstab in die Dämpfe) in Kieselfluorwasserstoff und Kieselsäurehydrat, das sich als gallertiger Niederschlag oder Beschlag abscheidet. Ueber eine zweckmässige Ausführung dieses Verfahrens zum Nachweis und auch zur quantitativen Bestimmung des Fluors in Knochen und Zähnen siehe Harms[1]).

Vorkommen. 48. **Schwefelwasserstoff H_2S.** Als ziemlich constanter Bestandtheil findet sich Schwefelwasserstoff in dem Gemisch der Gase im Dickdarm, oft auch im übrigen Darme, er bildet sich bei der Fäulniss in Leichentheilen, sowie in brandigen Abscessen, Pyopneumothorax, faulendem Eiter auf Geschwüren. In Verbindung mit Alkalimetallen erhält man ihn beim Kochen vieler schwefelhaltiger, organischer Substanzen mit Alkalien oder beim Glühen von schwefelsauren Salzen mit Kohle bei gehindertem Luftzutritt.

Eigenschaften. Schwefelwasserstoff ist ein farbloses, wie faule Eier riechendes, vom Wasser reichlich absorbirbares Gas; es färbt feuchtes, blaues Lacmuspapier roth (an der Luft getrocknet wird dies wieder blau), brennt mit bläulicher Flamme und wird durch Oxydationsmittel unter Abscheidung oder gleichzeitiger Oxydation des Schwefels oxydirt. Mit Alkalien verbindet sich Schwefelwasserstoff zu in Wasser löslichen, an der Luft sehr veränderlichen Schwefelmetallen.

Die Lösungen der Schwefelalkalien werden:

1. durch viele Schwermetalle unter Bildung meist gefärbter Sulfide gefällt. Schwefelblei und Schwefelsilber sind schwarz und in verdünnten Säuren unlöslich;

2. durch Nitroprussidnatrium purpurroth gefärbt;

3. sie entwickeln auf Zusatz von Salzsäure Schwefelwasserstoff.

Freier Schwefelwasserstoff giebt die erste, aber nicht die zweite Reaction.

Nachweis. Zum Nachweis der Schwefelalkalien dient der schwarze Niederschlag (bezw. Schwarzfärbung) auf Zusatz von essigsaurem Blei und die Rothfärbung auf Zusatz von Nitroprussidnatrium.

Zum Nachweise des Schwefelwasserstoffs dienen ausser dem charakteristischen Geruche noch folgende Proben: Ein Schwefelwasserstoff enthaltendes Gasgemenge färbt 1. einen mit einer Lösung von essig-

---

[1]) Zeitschr. für Biolog. **38.** 487. (1899.)

saurem Blei und etwas Ammoniak befeuchteten Papierstreifen schwarz; 2. einen mit einer Lösung von Nitroprussidnatrium und einem Tropfen verdünnter Natronlauge befeuchteten Papierstreifen purpurroth. Die geringsten Spuren von Schwefelwasserstoff findet man in Gasgemengen, wenn man dieselben durch eine mit überschüssiger Natronlauge versetzte Bleizuckerlösung streichen lässt.

49. **Schwefelsäure H_2SO_4.** Die Schwefelsäure, in sehr geringer Menge im Blute und den Gewebsflüssigkeiten, mit Ausnahme der Milch auch in allen Secreten enthalten, findet sich nur im Harne etwas reichlicher, wohl stets an Alkalien gebunden. Sie ist im Trinkwasser und in fast allen Nahrungsmitteln enthalten und bildet sich ausserdem im Thierkörper als Oxydationsprodukt der Proteinstoffe. Freie Schwefelsäure findet sich im Speicheldrüsensecret von Dolium galea. Vorkommen.

Die reine Schwefelsäure stellt eine erst weit über 100° flüchtige, mit Wasser, Alkohol oder Aether in jedem Verhältnisse mischbare, farblose Flüssigkeit dar. Sie ist bei gewöhnlicher Temperatur die stärkste Säure und treibt alle leichter flüchtigen Säuren aus ihren Verbindungen beim Erwärmen aus. Die neutralen schwefelsauren Salze sind in Alkohol und Aether unlöslich. Beim Glühen mit Kohle werden sie zu Schwefelmetallen reducirt; beim Glühen mit Soda und Kohle geben sie Schwefelnatrium, welches in Wasser gelöst metallisches Silber schwarz färbt (Schwefelsilber) und beim Zusatz von Salzsäure Schwefelwasserstoff entwickelt. Eigenschaften.

Die Lösungen schwefelsaurer Salze werden gefällt:

1. Durch Chlorcalcium in concentrirter Lösung. Der krystallinische Niederschlag, schwefelsaurer Kalk, bildet sich, wenn die Lösung nicht sehr concentrirt ist, allmählich, ist in viel Wasser löslich, leichter in Salzlösungen, unlöslich in Alkohol.

2. Durch Chlorbarium oder salpetersauren Baryt. Der sehr feinkörnige, leicht durch's Filter gehende Niederschlag, schwefelsaurer Baryt, ist unlöslich in Wasser, kaum löslich in Säuren. In sehr verdünnten Lösungen entsteht er erst nach einigen Secunden. Durch Erwärmen und Zusatz von Chlorammonium wird er besser filtrirbar. Stark mit Salzsäure oder Salpetersäure versetzte Lösungen geben auch bei Abwesenheit von Sulfaten mit Chlorbarium einen weissen, krystallinischen, in Wasser leicht löslichen Niederschlag.

3. Durch essigsaures Bleioxyd. Der weisse feinkörnige Niederschlag, schwefelsaures Bleioxyd, ist sehr schwer löslich in Wasser oder verdünnten Säuren.

Zum Nachweis der Schwefelsäure benutzt man vor Allem das Verhalten gegen Barytsalze, da dies keine Verwechselung zulässt. Nachweis.

Unterschweflige Säure $H_2S_2O_3$. Von Schmiedeberg[1]) und Meissner[2]) als fast constanter Bestandtheil des Katzenharns und sehr häufiger Bestandtheil des Vorkommen.

---

[1]) Schmiedeberg, Arch. d. Heilkunde. 8. 422. (1867.)

[2]) Meissner, Zeitschr. f. rat. Med. **31**. 322 Anm. (1868.)

Hundeharns nachgewiesen. Ihr Auftreten in diesen Harnen steht wahrscheinlich in Beziehung zum Cystin, welches im Hundeharn nicht selten ist und bei der Oxydation mit Wasserstoffhyperoxyd unterschweflige Säure liefert. Spiegel[1]) fand auch in einem Fall von menschlicher Cystinurie diese Säure im Harn.

Eigenschaften. Die unterschweflige Säure ist im freien Zustande nicht bekannt, in Verbindung mit Natrium erhält man sie am Einfachsten durch Kochen einer Lösung von schwefligsaurem Natron mit gepulvertem Schwefel. Ihre Alkali- und Erdalkalisalze sind ebenso wie das Magnesium- und Zinksalz in Wasser löslich, am Wenigsten das Barytsalz, es entsteht daher ein Niederschlag von unterschwefligsaurem Baryt, wenn man eine nicht allzuverdünnte Lösung des Alkalisalzes mit Chlorbarium versetzt. Das Silbersalz ist unlöslich in Wasser, aber leicht löslich in überschüssigem unterschwefligsaurem Alkali. Das unterschwefligsaure Silber schwärzt sich bald durch Bildung von Schwefelsilber. Das Kalk- sowie das Strontiansalz zersetzen sich beim Kochen der Lösung unter Abscheidung von Schwefel. Versetzt man die Lösung eines unterschwefligsauren Salzes mit Salzsäure, so trübt sich die Flüssigkeit bald durch Abscheidung von amorphem Schwefel, in der Lösung ist dann schweflige Säure.

Darstellung aus Harn. Schmiedeberg stellte unterschwefligsauren Baryt aus Hunde- oder Katzenharn dar, indem er zunächst den Harn mit Kalkmilch und salpetersaurem Kalk fällte, dann durch Kohlensäure im Filtrate den Kalk entfernte, mit Essigsäure oder Salpetersäure neutralisirte und mit Bleiessig fällte. Den mit Wasser ausgewaschenen Bleiniederschlag zerlegte er mit kohlensaurem Ammoniak, entfärbte mit Thierkohle, erwärmte mit Aetzbaryt, so lange Ammoniak ausgetrieben wurde, fällte den überschüssigen Baryt mit Kohlensäure und dampfte das Filtrat zur Krystallisation ein.

Meissner behandelte den Harn sogleich mit Barytwasser im Ueberschusse, filtrirte, dampfte ein, fällte mit Alkohol. Der dicke weisse Niederschlag löste sich grösstentheils in kochendem Wasser und beim Abdampfen und nachherigen Erkalten der Lösung schied sich der unterschwefligsaure Baryt in schönen farblosen Krystallen ab.

Gegen diese Darstellungsmethode ist nur einzuwenden, dass Cystin, welches jedenfalls oft in diesen Harnen vorkommt, bei dem längeren Erwärmen mit Barytwasser Schwefelbarium und durch Einwirkung der Luft unterschwefligsauren Baryt liefern kann.

Nachweis. Den einfachsten Nachweis der unterschwefligen Säure im Harne erhält man durch Zusatz von starker Salzsäure, der Harn wird bei ihrer Anwesenheit bald milchigtrübe und setzt im Verlaufe mehrerer Tage Schwefel mit anderen Substanzen (Kynurensäure u. s. w.) ab. Der Schwefel kann dann mit frisch rectificirtem Schwefelkohlenstoff gelöst und durch Verdunsten der Lösung rein erhalten werden.

Vorkommen. 50. **Phosphorsäure H_3PO_4.** Nächst dem Calcium ist die Phosphorsäure im Körper der Wirbelthiere am Reichlichsten von allen anorganischen Substanzen enthalten und zwar besonders in den Knochen und Zähnen, hier nur an Calcium und Magnesium gebunden; sie findet sich mit diesen Metallen und mit Alkalimetallen verbunden in geringer Menge in allen thierischen Flüssigkeiten, besonders auch im Harne, ist ein gewöhnlicher Bestandtheil der Harnsteine und anderer Concremente und bildet sich bei der Zerlegung der Nuclein- und Paranucleinstoffe, der Lecithine, der Glycerinphosphorsäure und anderer wenig bekannter phosphorhaltiger Verbindungen.

Eigenschaften. Sie ist eine farblose Säure, die bei gew. Temperatur leicht aus ihren

---

[1]) Arch. f. pathol. Anat. **166.** 364. (1901.)

neutralen Salzen einen Theil des Metalls an andere Säuren abtritt und saure Salze bildet, in der Hitze dagegen die meisten Säuren aus ihren Salzverbindungen austreibt. Beim Erhitzen geht sie unter Wasserverlust in Pyro- und endlich in Metaphosphorsäure über, welche durch Glühen mit kohlensaurem Natron wieder in gewöhnliche Phosphorsäure umgesetzt werden. Beim lebhaften Erhitzen der freien Säure in offener Platinschale verdampft sie, ihre neutralen Alkalisalze werden beim Erhitzen mit Kohle nicht zerlegt, die Verbindungen mit schweren Metallen dagegen werden durch Glühen mit organischen Stoffen zersetzt.

Die Phosphorsäure ist dreibasisch, giebt also mit Metallen drei Reihen von Verbindungen, ein neutrales und zwei saure Salze und viele Doppelsalze. Die Verbindungen mit Alkalien sind löslich in Wasser, unlöslich in Alkohol; die neutralen Verbindungen mit alkalischen Erden sind alle unlöslich in Wasser, etwas löslich in kohlensäurehaltigem Wasser, unlöslich in Ammoniak, leicht löslich in Mineralsäuren, auch löslich in Essigsäure.

Die Verbindungen mit 1 Aequivalent Alkali röthen blaues Lacmus, lassen Lacmoid blau, Phenolphtalëin oder Curcuma farblos resp. gelb. Die Verbindungen von 1 Aequiv. Phosphorsäure mit 2 Aequiv. Alkali lassen Curcuma und Phenolphtalëin unverändert, färben aber rothes Lacmus blau. Die Verbindungen mit 3 Aequiv. Alkali färben auch Curcuma braun, Phenolphtalëin roth. Freie Phosphorsäure färbt auch Lacmoid roth.

Die nur zwei Atome feuerbeständige Basis enthaltenden Salzen werden beim Glühen in pyrophosphorsaure Salze umgewandelt.

Die Lösungen phosphorsaurer Salze werden gefällt:

1. Durch Chlorbarium oder Chlorcalcium und Ammoniak; der weisse flockige Niederschlag ist unlöslich in Ammoniak, löslich in Essigsäure und in Mineralsäuren.

2. Durch salpetersaures Silber in Lösungen neutraler phosphorsaurer Salze. Der gelbe Niederschlag ist in Säuren oder Ammoniak leicht löslich.

3. Durch Magnesiamischung (Anh.); in nicht zu verdünnten Lösungen entsteht der weisse Niederschlag als feinkörniges Pulver sofort, in sehr verdünnten allmählich sich als Krystalle an den Glaswandungen abscheidend. Der Niederschlag, phosphorsaure Ammoniak-Magnesia, ist leicht löslich in Säuren, unlöslich in Ammoniak.

4. Durch wenig Eisenchlorid in nur Essigsäure als freie Säure enthaltender Lösung als flockiger gelblichweisser Niederschlag, phosphorsaures Eisenoxyd. (Eigenschaften des Niederschlags siehe § 41, 5.)

5. Durch Lösung von molybdänsaurem Ammoniak in Salpetersäure (Anh.). Der gelbe Niederschlag entsteht bei gewöhnlicher Temperatur langsam, beim Erwärmen schneller und überhaupt nur dann, wenn die Lösung weniger Phosphorsäure als zu ihrer Ausfällung erforderliches molybdänsaures Ammoniak enthält und keine Weinsäure zugegen ist; er ist

unlöslich allein in der Lösung des Fällungsmittels selbst. Gegenwart von Salzsäure beeinträchtigt diese Fällung sehr.

Nachweis. Zum Nachweis dienen die unter 3. und 5. aufgeführten Reactionen.

Pyrophosphorsäure $H_4P_2O_7$ bildet sich aus der gewöhnlichen Phosphorsäure, wenn entweder sie selbst oder ihre Salze, die nur zwei Atome feuerbeständiger Basen enthalten stark erhitzt werden. Sie bildet sich z. B. bei Verkohlung und Veraschung des Gehirns und anderer lecithinreicher Substanzen.

Die pyrophosphorsauren Alkalien sind in Wasser löslich, die Salze der alkalischen Erden nur in Lösungen anderer Salze. Die Lösungen pyrophosphorsaurer Alkalien geben:

1. mit salpetersaurem Silberoxyd einen weissen, in Salpetersäure sowie in Ammoniak löslichen Niederschlag;

2. mit schwefelsaurer Magnesia einen weissen, flockigen Niederschlag, der sowohl in überschüssiger schwefelsaurer Magnesia als in überschüssigem phosphorsaurem Alkali sich löst. Durch Ammoniak wird diese Lösung nicht gefällt;

3. mit Luteokobaltchlorid (Kobaltihexaminchlorid) bei mässiger Verdünnung sogleich, bei starker Verdünnung erst beim Umschütteln einen blassröthlichgelben krystallinischen Niederschlag, während die Lösungen der Alkalisalze der gewöhnlichen Phosphorsäure und der Metaphosphorsäure erst nach einigen Stunden Niederschläge geben, die auch durch ihr Ansehen von dem der Pyrophosphorsäure leicht zu unterscheiden sind.

Durch Kochen mit Säuren oder Glühen mit Alkalien oder alkalischen Erden geht die Pyrophosphorsäure in gewöhnliche Phosphorsäure über.

Vorkommen. 51. **Kieselsäure SiO_2.** Sie findet sich als unlösliche Kieselsäure reichlich in den Federn der Vögel [hier auch in organischer esterartiger Verbindung[1]], in geringer Menge in den Haaren der Säugethiere, wenn auch bei diesen epithelialen Gebilden die Möglichkeit einer Verunreinigung durch kieselsäurehaltigen Staub besteht. Als lösliche Kieselsäure findet sie sich im Harn der Pflanzenfresser in leicht nachweisbarer Menge, im menschlichen Harn nur in Spuren; auch in den verschiedensten Organen und Flüssigkeiten ist sie in geringer Menge aufgefunden[2]. Knukel[3] fand sie regelmässig im Pancreas.

Eigenschaften. Die wasserfreie Kieselsäure stellt ein feuerbeständiges, weisses, in gewöhnlichem Feuer nicht schmelzbares Pulver dar, das in Wasser oder Säuren nach dem Trocknen in der Hitze unlöslich ist. Wird die lösliche Säure aus ihren alkalischen Verbindungen durch Säuren abgeschieden, so bleibt sie zunächst gelöst, bildet beim Concentriren der sauren Lösung eine Gallerte mit dem noch rückständigen Wasser und bleibt beim Eintrocknen und Erhitzen des Rückstandes als weisse pulverige, in Wasser und in Säuren unlösliche, in kochender Alkalilauge lösliche Masse zurück. Fluorwasserstoff löst die Kieselsäure zu Fluorsiliciumgas, welches sich mit Wasser in Kieselfluorwasserstoff und gallertige Kieselsäure zerlegt (s. § 47, 2).

Nachweis. Zum Nachweis der Kieselsäure in Aschen (die in Platingefässen angefertigt sein müssen) fügt man zu denselben verdünnte Salzsäure in genügendem Ueberschusse, verdunstet zur Trockne, erhitzt den Rückstand einige Minuten auf dem Sandbade über 100°, so lange saure Dämpfe entweichen, lässt erkalten, übergiesst mit verdünnter Salzsäure und erwärmt; ist Kieselsäure vorhanden, so bleibt sie als feines weisses Pulver zurück, welches mit überschüssiger wässeriger Flusssäure in einer Platinschale verdampft, sich ganz verflüchtigt.

---

1) Drechsel, Centralbl. f. Physiol. **11**. 361. (1898.)

2) Siehe H. Schulz, Arch. f. d. ges. Physiol. **84**. 67. (1901) hier auch eine Literaturübersicht.

3) Sitzungsber. d. physik.-medic. Ges. zu Würzburg 1898. 78.

Ammoniak NH_3.

52. In Verbindungen mit Säuren findet sich Ammoniak im Magen- und Darm-Inhalte, besonders im Dickdarme oft reichlich, im Harne in geringen wechselnden Mengen normal, bei manchen Krankheiten reichlicher. Regelmässig findet es sich im Blut, in der Milch und, so weit die Untersuchungen reichen, in allen Organen. Bei der Fäulniss von Harn, Blut, Eiter, thierischen Geweben und Organen bildet es sich reichlich, ebenso bei der Zersetzung von Harnstoff, Leim, Albuminstoffen u. s. w. durch Kochen mit starken Säuren oder Alkalien; es entsteht auch bei der Pancreasverdauung der Eiweissstoffe. Vorkommen.

Das freie Ammoniak ist ein farbloses Gas von eigenthümlichem, stechendem Geruche, welches bei gewöhnlicher Temperatur sehr reichlich vom Wasser absorbirt wird und aus wässerigen Flüssigkeiten beim Kochen oder Stehen an der Luft nur langsam vollkommen entweicht. Es färbt feuchtes rothes Lacmuspapier blau, Curcumapapier braun, mit Mercuronitratlösung befeuchtetes Papier schwarz, Cochenilletinctur carminroth. Das Ammoniak verbindet sich direkt mit Säuren zu Salzen, als Gas giebt es mit dem Dampfe von Säuren, wie Salzsäure, Salpetersäure, Essigsäure, weisse Nebel, welche aus Ammoniaksalzen bestehen. Die Verbindungen des Ammoniaks mit Säuren gleichen den entsprechenden Verbindungen des Kalis und geben auf die gleiche Weise wie diese Niederschläge mit Platinchlorid, Weinsäure, Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdänsäure. Das durch Fällung der Ammoniaklösungen mit Platinchlorid erhaltene hellgelbe, feinkrystallinische Ammoniumplatinchlorid ist in Wasser schwer, in Alkohol und Aether fast gar nicht löslich; beim Erhitzen zerlegt es sich unter Verflüchtigung von Salzsäure und Chlorammonium und Hinterlassung von metallischem Platin. Aus seinen Salzen wird das Ammoniak durch Alkalien oder alkalische Erden in Freiheit gesetzt und kann durch die oben beschriebenen Eigenschaften leicht erkannt werden. Eigenschaften.

Zum Nachweis von freiem Ammoniak in Flüssigkeiten ist es zweckmässig, die zu prüfende Flüssigkeit in ein Becherglas zu bringen, ohne dessen Rand damit zu benetzen; man bedeckt das Becherglas mit einer reinen Glasplatte, an deren untere Seite ein Stück feuchtes rothes Lacmuspapier angelegt ist. Enthält die Flüssigkeit auch nur Spuren von Ammoniak, so wird das Papier nach einiger Zeit blau gefärbt. Bei Anwesenheit stickstoffhaltiger organischer Stoffe, die leicht zersetzlich sind, darf man die Flüssigkeiten nicht zu lange vor der Prüfung stehen lassen, da man sonst befürchten muss, dass eine Zerlegung unter Ammoniakentwickelung eintritt. Auf Ammoniaksalze prüft man die Flüssigkeiten in gleicher Weise, nachdem man einen genügenden Ueberschuss von Kalkmilch oder, bei Anwesenheit von leicht zersetzlichen stickstoffhaltigen Substanzen, z. B. Proteinkörpern, von Magnesia hinzugefügt hat. Nachweis.

Nachweis von Ammoniak in Spuren.

Flüssigkeiten, die selbst nur Spuren von freiem Ammoniak enthalten, geben mit einigen Tropfen Quecksilberchlorid versetzt weisse Trübung oder Niederschlag von Quecksilberammoniumchlorid, mit Nessler's Reagenz (Anh.) versetzt braune Fällung oder gelbe Färbung. Diese letztere Reaction tritt auch ein bei Anwesenheit von Spuren von Ammoniaksalzen. Natürlich dürfen die zu prüfenden Flüssigkeiten keine anderen Substanzen, welche durch diese Reagentien gefällt werden, enthalten. Ist das der Fall, so empfiehlt es sich, den Nachweis mit Hülfe des Nessler-schen Reagenz in der Weise zu führen, dass man mittelst eines Aspirators Luft durch drei mit einander verbundene Kugelapparate leitet, von denen der erste mit Schwefelsäure, der zweite mit der zu untersuchenden Flüssigkeit und der dritte mit Nessler's Reagenz gefüllt ist. Die durch Schwefelsäure von Ammoniak völlig befreite Luft entzieht der zu prüfenden Flüssigkeit allmählich das freie Ammoniak vollständig und bewirkt beim Durchstreichen durch die alkalische Jodquecksilber-Jodkaliumlösung einen braunen Niederschlag oder mindestens eine gelbe Färbung.

2. Organische Stoffe oder Kohlenstoffverbindungen.

Allgemeines.

53. Die sogenannten organischen Körper oder Kohlenstoffverbindungen sind beim anhaltenden Erhitzen unter Zutritt der atmosphärischen Luft entweder unzersetzt oder unter Zersetzung flüchtig. Die letzteren, d. h. die in der Hitze sich zerlegenden organischen Stoffe geben bei dem Erhitzen fast alle zunächst Kohle, welche dann beim weiteren Glühen mit dem Sauerstoff der Luft zu Kohlensäure verbrennt. Beim Erhitzen mit leicht oxydirenden Körpern, wie Kupferoxyd, Salpeter, chlorsaurem Kali, wird der ganze Kohlenstoffgehalt zu Kohlensäure, der ganze Wasserstoffgehalt zu Wasser oxydirt. Erhitzt man dagegen organische Stoffe bei Ausschluss oder unzureichender Menge von Sauerstoff oder oxydirenden Substanzen, so treten ausser Kohlensäure und Wasser noch andere meist sehr mannigfaltige flüchtige Zersetzungsproducte auf und Kohle bleibt zurück.

Alle hierher gehörigen Körper mit Ausnahme der gasförmigen Kohlensäure und der Schwefelcyanverbindungen enthalten Wasserstoff, alle mit wenigen Ausnahmen (Schwefelcyanverbindungen, Adenin) auch Sauerstoff. In vielen Kohlenstoffverbindungen findet sich ausserdem Stickstoff, welcher beim Erhitzen als Ammoniak oder Ammoniakverbindung entweicht. Nur wenige der im Folgenden abgehandelten Stoffe enthalten Schwefel, noch weniger Phosphor (und zwar letzteren stets in der Verbindung der Phosphorsäure), Eisen oder Jod.

Zur Erkennung organischer Stoffe erhitzt man ein wenig der zu prüfenden Substanz auf Platinblech zuerst sehr vorsichtig, allmählich bis zum

Glühen. Die meisten organischen Stoffe, die hierher gehören, werden bei dieser Erhitzung unter Hinterlassung von Kohle zerlegt, auch diese verbrennt beim weiteren Glühen und man erkennt dann, ob ausser der organischen Substanz sich noch schmelzbare oder unschmelzbare anorganische Stoffe in der Probe befinden. Andere verflüchtigen sich ohne Bildung von Kohle, z. B. Ammoniaksalze, organische flüchtige Säuren, Oxalsäure.

Zur weiteren Specialisirung ist es erforderlich, einen organischen Stoff, über dessen Zusammensetzung man keine hinreichende Kenntniss besitzt, auf Gehalt an Stickstoff, Schwefel, Phosphor, Eisen, Jod zu untersuchen.

54. **Untersuchung organischer Stoffe auf Stickstoffgehalt.** Körper, welche viel Stickstoff enthalten, entwickeln beim Erhitzen den Geruch nach verbranntem Horn oder Leim und die sich entwickelnden Gase geben die Reactionen des freien Ammoniaks. Zur sicheren Prüfung schlägt man folgende Wege ein:

a) Man vermischt die zu untersuchende Substanz mit vorher geglühtem Natronkalk im Ueberschusse und erhitzt dann das Gemenge im Glaskölbchen. Ist die Substanz stickstoffhaltig, so entweicht Ammoniak gasförmig und wird an seinem Geruche, Verhalten gegen feuchtes, rothes Lacmuspapier, gegen Essigsäure u. s. w. (vergl. § 52) erkannt.

b) Sehr scharfe Erkennung des Stickstoffgehaltes in organischen Körpern gestattet Lasseigne's Methode. Man bringt die trockene Substanz in ein trockenes Probirröhrchen, wirft ein Stückchen metallisches Natrium dazu und erhitzt nun allmählich bis zum Glühen. Beim Glühen des Natrium mit Kohlenstoff und Stickstoff enthaltenden Substanzen bildet sich Cyannatrium. Zertrümmert man jetzt das Glas durch Aufstossen in einer Reibschale, bringt vorsichtig Wasser hinzu, verrührt die verkohlte Masse in dem Wasser, filtrirt und fügt zum klaren Filtrate etwas Eisenvitriol und etwas Eisenchlorid hinzu, so entsteht nach Zusatz von Salzsäure grüne bis blaue Färbung oder blauer Niederschlag (Berliner Blau). Ist die Färbung grün, so filtrirt man mehrmals durch dasselbe Filter und überzeugt sich, dass ein blauer Niederschlag zurückbleibt.

55. **Untersuchung organischer Stoffe auf Schwefelgehalt.** Der Schwefel kann in organischen Stoffen als locker gebundener oder als festgebundener oder auch in beiden Formen, wie z. B. im Eiweiss vorkommen. Als locker gebundenen bezeichnet man den Schwefel, welcher beim Kochen mit starker Alkalilauge als Schwefelalkali abgespalten wird.

Nachweis des Schwefels. Man mischt die zu untersuchende (sulfatfreie) Substanz mit der vielfachen Menge eines Gemisches von 1 Th. Soda und 2 Th. Salpeter im Platinschälchen, glüht vorsichtig bis zum Verschwinden der Kohle, löst nach dem Erkalten in Wasser, säuert die event. filtrirte Lösung mit Salzsäure an und versetzt mit Chlorbariumlösung. Trübung oder Niederschlag ($BaSO_4$) beweisen das Vorhandensein von Schwefel.

Bei sehr geringem Gehalt an Schwefel ist es nöthig, vor dem Zusatz von Chlorbarium die Flüssigkeit wiederholt nach Zusatz von viel Salzsäure zur Trockne abzudampfen, um die Salpetersäure zu entfernen; auch ist es in diesem Falle zweckmässig, die Probe bis zum nächsten Tag stehen zu lassen.

Nachweis des locker gebundenen Schwefels. Man kocht die Substanz mit starker Natronlauge und etwas Bleiacetat längere Zeit. Braunfärbung bezw. schwarzer Niederschlag von Schwefelblei zeigen locker gebundenen Schwefel an.

56. **Untersuchung organischer Stoffe auf Phosphorgehalt.** Die (von Phosphaten freie) Substanz wird mit der vielfachen Menge einer Mischung von 1 Th. Soda und 2 Th. Salpeter gemengt, in einer Platinschale bis zum Verschwinden der Kohle vorsichtig geglüht, die Masse nach dem Erkalten entweder

a) in überschüssiger verdünnter Salpetersäure gelöst, die Lösung zum Kochen erhitzt, etwas eingeengt und mit einer Lösung von molybdaensaurem Ammoniak (Anh.) im Ueberschuss versetzt. Bei Anwesenheit von Phosphor entsteht allmälich, schneller bei 40°, eine Gelbfärbung bezw. ein gelber Niederschlag von phosphormolybdaensaurem Ammoniak; oder

b) in Salzsäure gelöst, die Lösung mit Ammoniak übersättigt und mit Magnesiamischung (Anh.) versetzt. Bei Anwesenheit von Phosphor entsteht ein weisser Niederschlag von Ammoniummagnesiumphosphat.

57. **Untersuchung organischer Stoffe auf Eisengehalt.** a) Man verascht die (von anorganischen Eisenverbindungen freie) Substanz mit der vielfachen Menge eines Gemisches von 1 Th. Soda und 2 Th. Salpeter in einer Platinschale, löst die Schmelze in Salzsäure und prüft das Filtrat nach § 41 mit Rhodankalium oder Ferrocyankalium auf Eisen.

b) Man verascht durch Erhitzen mit einer Mischung gleicher Volumtheile conc. Schwefelsäure und conc. Salpetersäure im Reagenzglas, verdünnt mit dem mehrfachen Vol. Wasser, erhitzt bis zum Verschwinden der braunen Dämpfe und prüft in gleicher Weise (A. Neumann).

Die benutzten Reagentien müssen frei von Eisen sein.

58. **Untersuchung organischer Stoffe auf Jodgehalt.** Die Substanz wird in einem Nickeltiegel mit etwas Wasser übergossen und nach Zugabe von der doppelten Menge Aetznatron (jodfrei aus metall. Natrium hergestellt) bis zur völligen Verkohlung erhitzt, darauf die gleiche bis anderthalbfache Menge fein gepulverter Salpeter zugefügt und geglüht, die Schmelze nach dem Abkühlen in Wasser heiss gelöst und filtrirt. Beim Schütteln des abgekühlten und mit Schwefelsäure angesäuerten Filtrats mit Chloroform färbt sich dieses violett, wenn Jod vorhanden war.

Bezüglich der Beschreibung der einzelnen organischen Verbindungen gilt dasselbe, was § 36 in Betreff der anorganischen gesagt wurde; sie

nimmt in erster Linie Rücksicht auf die analytischen Zwecke dieses Buches.

Fettsäuren der Gruppen $C_n H_{2n} O_2$ und $C_n H_{2n-2} O_2$.

59. Die in menschlichen und thierischen Organismen und ihren Excreten vorkommenden hierher gehörenden Glieder dieser einbasischen Säuregruppen sind:

		Spec. Gewicht	bei Temp.	Siedepunkt	b. Druck mm	Schmelzpunkt
Ameisensäure	$C\ H_2\ O_2$	1,2415	0°	100,8°	760	+ 8,6°
Essigsäure	$C_2\ H_4\ O_2$	1,0701	0°	118,1°	„	+ 16,5°
Propionsäure	$C_3\ H_6\ O_2$	1,0133	0°	140,9°	„	— 22,0°
Buttersäure	$C_4\ H_8\ O_2$	0,9781	0°	162,5°	„	— 7,9°
Isobuttersäure . . .	$C_4\ H_8\ O_2$	0,9651	0°	154,0—154,2°	„	— 79,0°
Isovaleriansäure . .	$C_5\ H_{10}\ O_2$	0,9467	0°	173,7°	„	— 51,0°
Capronsäure	$C_6\ H_{12}\ O_2$	0,9446	0°	204,5—205°	„	— 1,5°
Caprylsäure	$C_8\ H_{16}\ O_2$	0,9270	0°	236—237°	„	+ 16,5°
Caprinsäure	$C_{10}\ H_{20}\ O_2$	0,930	37,0°	268—269°	„	+ 31,3 bis + 31,4°
Laurinsäure	$C_{12}\ H_{24}\ O_2$	0,8750	43,6°	225,0°	100	+ 43,6°
Myristinsäure	$C_{14}\ H_{28}\ O_2$	0,8622	53,8°	250,5°	„	+ 53,8°
Palmitinsäure. . . .	$C_{16}\ H_{32}\ O_2$	0,8527	62,0°	268,5°	„	+ 62,6°
Margarinsäure. . . .	$C_{17}\ H_{34}\ O_2$	—	—	277,0°	„	+ 59,9°
Stearinsäure	$C_{18}\ H_{36}\ O_2$	0,8454	69,2°	291,0°	„	+ 69,2°
Arachinsäure	$C_{20}\ H_{40}\ O_2$	—	—	—	—	+ 75,0°
Hyaenasäure	$C_{25}\ H_{50}\ O_2$	—	—	—	—	+ 77—78°
Cerotinsäure	$C_{26}\ H_{52}\ O_2$	—	—	—	—	+ 78,5°
Oelsäure	$C_{18}\ H_{34}\ O_2$	—	—	223°	10	+ 14°

Vergleicht man zwei in ihrer Zusammensetzung einander nahe stehende Glieder der Säurereihe $C_n H_{2n} O_2$ hinsichtlich ihrer chemischen Eigenschaften, so ist es nur bei einigen bis jetzt möglich, bestimmte Unterschiede beider aufzufinden, die nicht blos graduelle Differenzen wären, während die weit auseinander liegenden Glieder sich ziemlich leicht von einander trennen und in ihren physikalischen und chemischen Eigenschaften unterscheiden lassen. Die Schwierigkeit des Nachweises dieser Substanzen im Einzelnen wird durch den Umstand noch wesentlich erhöht, dass gerade die in ihrer Zusammensetzung einander nahe stehenden Säuren in den Organismen zusammen in denselben Organen, in denselben Flüssigkeiten vorzukommen pflegen. So finden sich in dem menschlichen und thierischen Fett als wesentliche Bestandtheile wohl überall Palmitinsäure, Stearinsäure und Oelsäure neben einander in verschiedenen Mengenverhältnissen in Verbindung mit Glycerin, während Myristinsäure, Laurinsäure, Caprin-, Capryl-, Capron- und Buttersäure sich nicht constant darin finden und wo sie überhaupt darin auftreten, nur in relativ geringen Mengen sich zeigen. Andererseits sind im Schweisse des Menschen und verschiedener Thiere, in den Gewebsflüssigkeiten die niederen Homologen enthalten, während die Fettsäuren vom höheren Moleculargewichte fehlen. Bei der bacteriellen Zersetzung der Kohlehydrate, Eiweiss- und Leimstoffe bilden sich viele der obigen Säuren neben einander, ohne dass es erwiesen wäre, ob sie alle dabei

entstehen können, zweifelhaft ist es besonders für die Säuren von der Laurinsäure bis zur Stearinsäure. Nur in den festen Excrementen, sowie im Dickdarminhalte sind fast alle obige Säuren enthalten, theils aus der Nahrung herrührend, theils im Darmcanale gebildet.

Allgemeine Eigenschaften. Die niederen Glieder der Reihe $C_nH_{2n}O_2$ sind in Wasser leicht lösliche Flüssigkeiten von stechendem Geruch, die mittleren ölige in Wasser wenig lösliche Substanzen von unangenehmem, schweissartigem Geruch, die höheren feste in Wasser unlösliche Körper ohne Geruch. Alle sind in Alkohol und besonders in Aether löslich. Die niederen und mittleren bis zur Caprinsäure destilliren mit den Wasserdämpfen und auch für sich unzersetzt, die höheren gehen nur im luftverdünnten Raum ohne Zersetzung über. Zur Identificirung haben für die Säuren von niedrigerem Moleculargewicht die Siedepunkte hohe Bedeutung, für die von hohem Moleculargewicht die Schmelzpunkte. Wo keine Angaben über spec. Gewicht und Siedepunkt gemacht sind, fehlen noch zuverlässige Bestimmungen. Ueber die Methoden der Abscheidung und Trennung der Fettsäuren siehe die §§ 71 und 72.

Wegen der grossen Aehnlichkeit unter einander kann die specielle Schilderung der einzelnen hierher gehörenden Säuren sich sehr kurz fassen.

Vorkommen. H—COOH 60. **Ameisensäure CH_2O_2.** In ziemlich concentrirter Lösung findet sich freie Ameisensäure in den Ameisen; auch in Raupen hat man sie nachgewiesen (Processionsraupe). Im menschlichen Körper soll sie in der Milzflüssigkeit vorhanden sein, auch vom Schweisse, Blute, Harne, von den Muskeln, dem Pancreas, der Thymus wird ihr Vorkommen angegeben. Sie entsteht bei Zersetzung des Blutfarbstoffes sowie eines im Harne häufig auftretenden, kaum gekannten Körpers durch Säuren, ferner bei der Oxydation von Eiweiss und Kohlehydraten mit Braunstein und Schwefelsäure, sowie auch bei der hydrolytischen Spaltung der Hexosen (und solcher Kohlehydrate, die beim Kochen mit verd. Säuren Hexosen liefern) neben Lävulinsäure und Huminsubstanzen.

Darstellung. Künstlich dargestellt wird sie am Besten durch Destillation von entwässerter Oxalsäure mit trocknem Glycerin.

Eigenschaften. Die Ameisensäure ist eine farblose Flüssigkeit von stechendem für sie charakteristischem Geruch. Ihre Salze sind alle in Wasser leicht löslich, am Schwersten das Quecksilberoxydulsalz, welches sich jedoch, wie weiter unten angegeben, leicht zerlegt; das Bleisalz ist in 36 Theilen Wasser löslich. Das Zinksalz ist in absol. Alkohol völlig unlöslich (Unterschied von essigsaurem und buttersaurem Zink[1]). Eine neutrale Flüssigkeit, welche Ameisensäure enthält, giebt mit neutralem Eisenchlorid eine dunkelrothe Färbung der Lösung und beim Kochen gelben Niederschlag eines basischen Salzes.

---

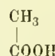
[1]) Haberland, Zeitschr. f. analyt. Chem. 38. 217. (1899.)

.Die Ameisensäure unterscheidet sich von allen ihren Homologen durch ihre leichte Zerlegung. Sie zersetzt sich in Berührung mit feinvertheiltem Rhodium zu Kohlensäure und Wasserstoff unter Freiwerden von Wärme; dieselbe Zersetzung bewirken Microorganismen, z. B. im Kloakenschlamm enthaltene. Durch Erhitzen mit concentrirter Schwefelsäure zerfällt sie in Kohlenoxyd und Wasser, durch Erhitzen mit Aetzkali oder besser Baryt bildet sie unter Wasserstoffentwickelung Oxalsäure. Salpetersaures Silberoxyd wird durch Ameisensäure beim Kochen schnell zu metallischem Silber reducirt, während Kohlensäure entweicht. Quecksilberoxydsalze, auch Quecksilberchlorid werden zunächst durch Erwärmen mit Ameisensäure in Oxydulsalze unter Kohlensäureentwickelung umgewandelt, beim fortgesetzten Erwärmen (allmählich bei gewöhnlicher Temperatur) tritt Reduction zu metallischem Quecksilber unter erneuter Entwickelung von Kohlensäure ein. Fügt man daher zu einer sauren Lösung von Ameisensäure Silberoxyd oder Quecksilberoxyd und kocht, so wird die Ameisensäure völlig zu Kohlensäure und Wasser zersetzt. Auf diese Weise lässt sich Ameisensäure aus Flüssigkeiten entfernen.

Nachweis.

Zu ihrem **Nachweis** dient das Verhalten gegen salpetersaures Silberoxyd sowie gegen Eisenchlorid.

Vorkommen.



61. **Essigsäure $C_2H_4O_2$.** Freie Essigsäure findet sich normal in menschlichen Fäcalstoffen, pathologisch nicht selten im Mageninhalte (Erbrochenen) bei Störungen der Magenverdauung, auch ohne vorangegangenen Essiggenuss, durch eine daselbst verlaufende Gährung von Milch, Brod u. s. w. entstanden, besonders häufig bei kleinen Kindern, zusammen mit freier Milchsäure. Nur in geringen Spuren sind essigsaure Salze im Safte verschiedener Organe (Milz, Muskeln), im Blute bei Leukämie, im Schweisse, in der Galle, im Harn nachgewiesen. Sie entsteht bei der Fäulniss der Eiweissstoffe, bei der Gährung von Kohlehydraten (daher ihr häufiges und reichliches Vorkommen im aufbewahrten, diabetischen Harn), bei der trocknen Destillation und Oxydation von Kohlehydraten, bei der hydrolytischen Spaltung der Mucine und anderer Substanzen, die bei dieser Behandlung Chitosamin liefern.

Darstellung.

Man stellt die Essigsäure durch Gährung von Wein oder Bier mit Essighefe (Mycoderma aceti) oder aus den Produkten der trocknen Destillation des Holzes dar; die concentrirte wird gewöhnlich durch Destillation von getrocknetem essigsauren Natron mit concentrirter Schwefelsäure erhalten.

Eigenschaften.

Die Essigsäure besitzt einen bekannten, charakteristischen Geruch; sie mischt sich mit Wasser und Alkohol in jedem Verhältnisse, wird durch concentrirte Schwefelsäure beim Erhitzen kaum angegriffen (meist geringe Schwärzung unter Entwickelung von schwefliger Säure). Salpetersaures Silberoxyd giebt mit hinreichend concentrirten Lösungen essigsaurer Salze weissen Niederschlag von essigsaurem Silberoxyd, der in heissem Wasser leichter löslich

ist und beim Erkalten der heiss concentrirten Lösung in blättrigen Krystallnadeln, löslich bei 14° in 98 Thln. Wasser, sich ausscheidet; Reduction des Silbers tritt beim Kochen nicht ein. Gegen Eisenchlorid verhalten sich die neutralen Salzlösungen der Essigsäure wie die der Ameisensäure.

Nachweis. Zu ihrem Nachweis dient das Verhalten der neutralen Lösungen ihrer Salze gegen Eisenchlorid (Ameisensäure verhält sich ebenso), der Geruch nach Essigsäureäthylester, welcher beim Erwärmen ihrer Salze mit einem Gemisch gleicher Volumina conc. Schwefelsäure und Alkohol auftritt, sowie der Kakodylgeruch, der beim Erhitzen von trocknem Alkaliacetat mit Arsenigsäureanhydrid entsteht. Indessen verhalten sich andere Fettsäuren bei diesen Reactionen ähnlich.

CH_3 | CH_2 | COOH

Propionsäure $C_3H_6O_2$ soll sich im Schweisse, in der Galle und zuweilen auch im Mageninhalte finden. Sie entsteht leicht bei Gährungen von milchsaurem Kalk neben Essigsäure und Buttersäure. Man stellt sie durch Kochen von Propionnitril mit Kalilauge oder durch Reduction von Milchsäure dar.

Die reine Propionsäure besitzt einen der Essigsäure ähnlichen Geruch, mischt sich in jedem Verhältnisse mit Wasser, wird aber durch viel Chlorcalcium aus der Lösung als ölige Flüssigkeit abgeschieden. Ihre Salze sind gleichfalls denen der Essigsäure sehr ähnlich, das Natronsalz ist leichter löslich in Wasser als das essigsaure Natron, das basische Bleisalz, das sich in kaltem Wasser leicht löst, ist in kochendem Wasser fast unlöslich und unterscheidet sich dadurch von den Bleisalzen der Ameisensäure, Essigsäure, Buttersäure[1]).

Vorkommen. 62. **Buttersäure** $C_4H_8O_2$. Die normale Buttersäure wurde zuerst in der Butter entdeckt, in welcher sie an Glycerin gebunden ist und beim Ranzigwerden der Butter zum Theil frei wird; sie findet sich als Glycerinverbindung auch im Frauenmilchfett und ist ausserdem im Schweisse, im Dickdarminhalte und den festen Excrementen, zuweilen im Mageninhalte und Harne aufgefunden. Auch im Blute, Safte der Milz, in Ovarialcystenflüssigkeiten und Muskeln ist sie nachgewiesen. Ferner ist sie in dem braunen Safte, den die Laufkäfer von sich geben, enthalten. Sie entsteht reichlich beim Schmelzen von Eiweiss mit Kali, wenig beim Erhitzen von milchsaurem Kalk mit Natronkalk, ferner bei der Fäulniss von Eiweissstoffen und ihrer Oxydation mit Braunstein und Schwefelsäure oder Chromsäure, bei der Gährung von Kohlehydraten, bei der Oxydation von Fett mit Salpetersäure.

CH_3 | $(CH_2)_2$ | COOH

Darstellung. Man stellt die Buttersäure durch Gährung von milchsaurem Kalk mit gewissen Spaltpilzen, wie sie sich z. B. in altem Käse finden, Fällung des gebildeten buttersauren Kalkes mit kohlensaurem Natron, Eindampfen der Lösung und Destillation der concentrirten Flüssigkeit mit verdünnter Schwefelsäure dar.

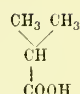
Eigenschaften. Sie ist im Wasser in jedem Verhältnisse löslich, ebenso in Alkohol oder Aether, besitzt einen ihr eigenthümlichen, unangenehmen, durchdringenden Geruch (nach ranziger Butter) und wird durch Chlorcalcium und ebenso

---

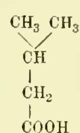
[1]) Haberland, a. a. O.

durch manche andere Salze aus ihrer wässerigen Lösung ölartig abgeschieden. Die trockne ölige Säure vereinigt sich beim längern Stehen mit Chlorcalcium zu einer festen krystallinischen Masse ebenso wie manche andere ihr homologe Säure. Das Barytsalz krystallisirt aus heisser wässriger Lösung mit 2, aus kalter Lösung mit 4 Mol. Krystallwasser, löst sich leichter in Wasser als das capronsaure Salz. Das Kalksalz mit 1 Mol. Krystallwasser krystallisirt in zarten Nadeln, seine kalt gesättigte wässrige Lösung scheidet bei 70 bis 100° fast das ganze Salz krystallinisch aus (charakteristisches Verhalten); 1 Theil Salz löst sich in 3,5 Theilen kaltem Wasser. Das Silbersalz wird aus concentrirter wässriger Lösung eines Alkalisalzes durch Silbernitrat gefällt; es ist viel schwerer löslich als essigsaures Silber. Buttersaures Guanidin liefert beim Erhitzen auf 230° buttersaures Guanamin, welches sich bei dieser Temperatur grösstentheils verflüchtigt, in Wasser leichter löslich ist, als isobuttersaures Guanamin und in rechtwinkligen Tafeln krystallisirt.

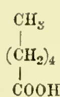
63. **Isobuttersäure** $C_4H_8O_2$ findet sich in den Fäces, sowie in den Fäulnissproducten von Eiweissstoffen. Sie wird aus Isopropylcyanid durch Kochen mit Kalilauge oder durch Oxydation von Isobutylalkohol erhalten. Sie mischt sich nicht in allen Verhältnissen mit Wasser, sondern erfordert davon 5 Theile bei 20° zur Lösung. Durch Oxydation wird sie leichter angegriffen als die normale Säure und durch Chromsäure zu Aceton, Essigsäure und Kohlensäure zersetzt. Ihr Calciumsalz löst sich bei 18° in 2,8 Theilen Wasser, in heissem Wasser viel reichlicher (guter Unterschied von der normalen Säure). Das Silbersalz ist leichter löslich in heissem Wasser als das Salz der normalen Säure; es wird aus concentrirter Lösung eines Alkalisalzes durch Silbernitrat erhalten. Isobuttersaures Guanidin liefert beim Erhitzen auf 230° isobuttersaures Guanamin, welches in Wasser schwer löslich ist und in spitzen Rhomboedern krystallisirt.



64. **Isovaleriansäure** $C_5H_{10}O_2$ ist gefunden im Thran von Delphinus globiceps, in Fäces von Menschen, bildet sich reichlich bei Fäulniss von Eiweissstoffen, von Leucin (neben Ammoniak und Kohlensäure), bei der Oxydation von Eiweissstoffen und Leim mit Chromsäure. Man erhält sie aus Isobutylcarbinol durch Oxydation mit Chromsäure. Sie ist in 26,6 Theilen Wasser bei 20° löslich und wird durch Salze aus dieser Lösung abgeschieden. Ihr Barytsalz und das 3 Mol. Krystallwasser enthaltende Kalksalz sind leicht löslich in Wasser, gut krystallisirbar. Das Silbersalz ist in Wasser sehr schwer löslich.



65. **Capronsäure** $C_6H_{12}O_2$. Die normale Capronsäure findet sich in der Butter und im Frauenmilchfett als Glycerinverbindung, im Limburger Käse, in den Fäces, bildet sich oft sehr reichlich bei der bacteriellen Zersetzung besonders aus Milchsäure oder Glycerin. Sie ist in Wasser kaum löslich. Der capronsaure Baryt krystallisirt wasserfrei in radial gestellten feinen Nadeln; 100 Theile Wasser lösen bei 24° 10,2 Theile des



Salzes nach Wein, bei 18,5° 8,5 Theile Salz nach Lieben und Rossi. In heissem Wasser viel reichlicher löslich. Das Calciumcapronat krystallisirt mit 1 Mol. Krystallwasser in dünnen glänzenden Krystallblättchen oder langen verzweigten Nadeln, nicht leicht löslich in Wasser und in heissem ungefähr ebenso wie in kaltem Wasser. Das Silbersalz bildet eine käsige Masse, fast unlöslich in kaltem, schwer löslich in heissem Wasser, aus heisser, wässriger Lösung in kleinen Nadeln krystallisirend.

CH_3 | $(CH_2)_6$ | COOH

66. **Caprylsäure** $C_8H_{16}O_2$. In der Butter als Glycerinverbindung enthalten, nach Lerch auch im Menschenfett und im Schweiss, ferner im Käse. Sie löst sich nur sehr wenig in Wasser. Das Barytsalz krystallisirt wasserfrei, es lösen sich bei 10° 0,79 Theile (Fehling), bei 18° 0,76 Theile (Wein), bei 20° 0,62 Theile des Salzes in 100 Theilen Wasser.

CH_3 | $(CH_2)_8$ | COOH

67. **Caprinsäure** $C_{10}H_{20}O_2$. In der Butter, im Frauenmilchfett, auch in einem Lipom als Glycerinverbindung gefunden, kommt auch im Käse vor. Sie bildet feine Nadeln. Das Barytsalz krystallisirt in fettglänzenden Blättchen, in kaltem Wasser kaum, in kochendem Alkohol oder Wasser etwas löslich. Das Calciumsalz ist etwas leichter löslich. Das Silbersalz, aus der Lösung von Ammoniumcaprinat gefällt, stellt einen weissen, in heissem Wasser sehr wenig, in heissem Alkohol reichlicher löslichen, in kaltem Wasser unlöslichen Niederschlag dar.

Trennung der Butter-, Capron-, Capryl- und Caprinsäure.

Zur Trennung der Buttersäure, Capron-, Capryl- und Caprinsäure von einander empfiehlt Wein[1]) die Barytsalze durch concentrirte Phosphorsäure zu zerlegen, die Oelschicht abzuheben und im Kohlensäurestrome fractionirt zu destilliren, aus dem unter 220° übergehenden Theil Buttersäure und Capronsäure, aus der Fraction 220—260° die Caprylsäure zu gewinnen; der bei 260—280° übergehende Theil giebt die Caprinsäure. Die Capronsäure kann durch Waschen mit Wasser von Buttersäure befreit werden (vergl. § 71).

CH_3 | $(CH_2)_{10}$ | COOH CH_3 | $(CH_2)_{12}$ | COOH

68. **Laurinsäure** $C_{12}H_{24}O_2$, **Myristinsäure** $C_{14}H_{28}O_2$. Diese Säuren finden sich in geringen Mengen wie es scheint im Wallrath, in der Butter, im Frauenmilchfett, vielleicht auch in den übrigen Fetten als Glycerinverbindungen. Myristinsäure wurde auch im Fett des Chylus, der Dermoidcysten, im Wollfett der Schafe nachgewiesen, und auch aus Rindergalle[2]) erhalten. Charakteristische Reactionen fehlen gänzlich.

Vorkommen.

CH_3 | $(CH_2)_{14}$ | COOH CH_3 | $(CH_2)_{16}$ | COOH

69. **Palmitinsäure** $C_{16}H_{32}O_2$, **Stearinsäure** $C_{18}H_{36}O_2$. Das im Unterhautbindegewebe, sowie an anderen Orten des menschlichen Körpers und bei Thieren abgelagerte Fett enthält ausser Oelsäure hauptsächlich Palmitinsäure und Stearinsäure in ihren Glycerinverbindungen, ebenso sind beide reichlich in der Butter, im Frauenmilchfett in Verbindung mit Gly-

---

[1]) Wein, Sitzungsber. d. phys. med. Soc. in Erlangen 15. Jan. 1877 und Diss. Erlangen 1876.

[2]) Lassar-Cohn, Zeitschr. f. physiol. Chemie. 17. 67. (1893.)

cerin, im Wallrath in Verbindung mit Cetylalkohol enthalten, in den Lecithinen in Verbindung mit Glyeerinphosphorsäure und Cholin, im Wollfett in Verbindung mit Cholesterinen. Palmitinsäure kommt reiehlich im Bienenwaehs an Myristylalkohol gebunden vor. Sie finden sieh in der Galle[1], aueh pathologisehe Fettbildungen enthalten beide. In Verbindung mit Kalk finden sich beide Säuren in den Fäces und im Leichenfette (Adipoeire), wahrscheinlich in Verbindung mit Natron im Blutserum und den Transsudaten, auch im Eiter und im normalen Menschenharn[2]) in ganz geringer Menge. Im freien Zustande treten sie in zersetztem Eiter, zerfallenen käsigen Tuberkelmassen auf.

Beide Säuren sind gerueh- und geschmacklose krystallinische Massen. Eigenschaften.
Der Schmelzpunkt der Palmitinsäure liegt bei 62,6°, der der Stearinsäure bei 69,2°. Nach den Bestimmungen von Heintz[3]) zeigen die Gemisehe beider Säuren folgende Schmelz- und Erstarrungspunkte:

Ein Gemiseh von

Stearinsäure	Palmitinsäure	schmilzt bei	erstarrt bei
90	10	67,2°	62,5°
80	20	65,3°	60,3°
70	30	62,9°	59,3°
60	40	60,3°	56,5°
50	50	56,6°	55,0°
40	60	56,3°	54,5°
30	70	55,1°	54,0°
20	80	57,5°	53,8°
10	90	60,1°	54,5°

Die Mischung gleicher Theile beider Säuren krystallisirt am Schönsten grossblätterig, die reinen Säuren bilden dagegen schuppig krystallinische, perlmutterglänzende Massen, die bei der mikroskopisehen Untersuchung als dünne, rhombische, biegsame Blättchen sich ergeben. Beide Säuren sind in Wasser ganz unlöslieh, in Alkohol löst sich die Palmitinsäure leichter als die Stearinsäure, in kochendem Alkohol sowie in Aether, Chloroform sind sie leicht löslich; aueh Eisessig löst sie reiehlich, besonders in der Wärme. Durch Wasser werden sie aus der Lösung in Eisessig oder Alkohol abgeschieden. Von Alkalien werden sie aufgelöst, und kocht man sie mit wässeriger Lösung kohlensaurer Alkalien und dampft das Gemenge zur Troekne ab, so treiben sie die Kohlensäure aus und bilden Salze. Diese Alkalisalze sind in Wasser sehr leieht löslich, werden aber dureh Zusatz von viel Wasser in Alkali und saures palmitinsaures oder saures stearinsaures Alkali zerlegt, welehe seidenartig glänzende, krystallinische, sieh schwer absetzende Niederschläge bilden. Das palmitinsaure und stearinsaure Kali und Natron sind wesentliche Bestandtheile der ge-

---

1) Lassar-Cohn, a. a. O.
2) Hybbinette, Skandin. Arch. f. Physiol. 7. 380. (1897.)
3) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. 8. 775. (1875.)
4) Poggendorff, Annal. d. Phys. u. Chem. 92. 588. (1854.)

wöhnlichen Seifen. In heissem Alkohol sind diese Alkalisalze ziemlich leicht löslich, scheiden sich aber aus der concentrirten Lösung beim Erkalten theilweise gallertartig aus; die Gallerte wandelt sich allmählich in Krystalle um. Die Verbindungen der Palmitinsäure und der Stearinsäure mit alkalischen Erden oder mit den Oxyden der schweren Metalle sind in Wasser und Alkohol unlöslich. Fügt man zu der siedend heissen Lösung eines Gemisches von palmitinsaurem und stearinsaurem Natron in Alkohol in kleinen Portionen eine heisse gesättigte Lösung von essigsaurem Baryt, so fällt zuerst nur stearinsaurer Baryt aus, später ein Gemenge von stearinsaurem und palmitinsaurem Salz und zuletzt reiner palmitinsaurer Baryt.

Nach dieser Methode der partiellen Fällung, wie sie Heintz zuerst angewendet hat, ist man im Stande, successive Stearinsäure, Palmitinsäure, Myristinsäure, Laurinsäure völlig rein in ihren Baryt- oder Magnesiasalzen darzustellen. Man erhält aus den Salzen die Säuren, indem man die ersteren in Wasser zertheilt, mit Salzsäure und dann mit Aether übergiesst, gut schüttelt, den Aether abgiesst, mit etwas Wasser wäscht und dann abdestillirt, es bleiben die reinen Säuren zurück.

Margarinsäure $C_{17}H_{34}O_2$ ist von Ebert[1]) in Leichenwachs gefunden.

Arachinsäure $C_{20}H_{40}O_2$ ist von Heintz in der Butter gefunden und durch fractionirte Fällung isolirt. Sie wurde auch aus dem Fett der Dermoidcysten gewonnen. Man erhält sie reichlich aus dem Erdnussöl.

Hyaenasäure $C_{25}H_{50}O_2$ ist eine fette Säure von Carius[2]) genannt, die er in der Fettmasse an den Analdrüsen einer Hyäne neben Palmitinsäure und Oelsäure an Glycerin gebunden fand und die von Schulze[3]) in Verbindung mit Cholesterinen im Fett der Schafwolle nachgewiesen wurde. Sie ist schwer löslich in kaltem, leicht löslich in heissem Alkohol, scheidet sich beim Erkalten der heissen alkoholischen Lösung in Körnern microscopischer Nadeln aus. In den meisten Eigenschaften stimmt sie mit der Stearinsäure überein. Von den anderen Säuren wurde sie durch fractionirte Fällung getrennt.

Cerotinsäure $C_{26}H_{52}O_2$ findet sich als freie Säure in reichlicher Menge im Bienenwachs, an Cerylalkohol gebunden im chinesischen Wachs. Sie scheidet sich beim Erkalten ihrer heissen alkoholischen Lösung krystallinisch aus.

Vorkommen.

CH_3 | $(CH_2)_7$ | CH ‖ CH | $(CH_2)_7$ | COOH

70. **Oelsäure** $C_{18}H_{34}O_2$. Die Oelsäure findet sich gebunden an Glycerin in allen Fetten des thierischen Körpers, auch in der Butter und im Frauenmilchfett und kommt im freien Zustande oder als Alkalisalz im Darminhalte vor, an anderen Orten höchstens in Spuren. Aus Galle[4]) wurde sie erhalten und in sehr geringer Menge aus normalem Menschenharn[5]).

Eigenschaften.

Die reine Oelsäure bildet bei gewöhnlicher Temperatur eine farb-, geschmack- und geruchlose ölige Flüssigkeit, die, wenn sie vorher bei nie-

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **8**. 775. (1875.)
[2]) Ann. Chem. Pharm. **129**. 168. (1864.)
[3]) Journ. f. prakt. Chem. N. F. **7**. 162 (1873) und **9**. 321 (1874). Journ. f. Landwirthschaft. 1879. 125.
[4]) Lassar-Cohn a. a. O.
[5]) Hybbinette a. a. O.

derer Temperatur erstarrt ist, bei 14° schmilzt. Sie ist unlöslich in Wasser, löslich in Alkohol, Aether oder Chloroform. Im Wasserdampfstrome von 250° destillirt die Oelsäure unzersetzt über. Die destillirte Säure verändert sich nur sehr langsam, die nicht destillirte schnell an der Luft unter Sauerstoffaufnahme und Bildung der sauren Substanzen, welche im alten Fette den ranzigen Geruch und Geschmack bewirken. Die Verbindungen der Oelsäure mit Alkali sind löslich in Wasser oder Alkohol, nicht löslich in concentrirter Alkalilauge oder Salzlösungen. Die Natronverbindung ist bei gewöhnlicher Temperatur nicht zerfliesslich, wohl aber die Kaliverbindung; auf dieser Differenz der Eigenschaften beruht die Verschiedenheit der Kali- und Natronseifen. Die wässerige Lösung der Alkaliverbindungen wird durch essigsaures Bleioxyd gefällt; der weisse zähe Niederschlag, ölsaures Bleioxyd, welcher die zähe klebrige Beschaffenheit der Bleipflaster bedingt, ist löslich in Aether, weniger in Alkohol, unlöslich in Wasser. Oelsäure verbindet sich direct mit Brom und Jod. Durch Einleiten von wenig salpetriger Säure wird die Oelsäure bald fest unter Bildung der ihr isomeren, bei 51° schmelzenden Elaïdinsäure.

Beim schnellen Erhitzen für sich oder mit einem Ueberschusse an Kali giebt die unzersetzte Oelsäure Sebacinsäure $C_{10}H_{18}O_4$, welche durch heisses Wasser aus dem Rückstande gelöst, heiss filtrirt, nach dem Erkalten der concentrirten Lösung sich in seideglänzenden blättrigen Nadeln abscheidet, die sich in Alkalien leicht lösen. Mit Kalihydrat zum Schmelzen vorsichtig erhitzt zerlegt sich Oelsäure in Palmitinsäure und Essigsäure. Mit Jodwasserstoff und rothem Phosphor auf 210° erhitzt wird Oelsäure zu Stearinsäure reducirt.

Zum Nachweis dient die Löslichkeit des Bleisalzes in Aether, ferner Nachweis. das Verhalten der Säure gegen salpetrige Säure und die Zerlegung in Palmitinsäure und Essigsäure beim Schmelzen mit Kali.

Abscheidung und Trennung der Fettsäuren

71. **a) der niederen Fettsäuren bis zur Caprinsäure.** Die flüchtigen Abscheidung. fetten Säuren von niedrigerem Moleculargewicht (§§ 60—67) lassen sich durch Destillation am besten im Wasserdampfstrom von den nicht flüchtigen Körpern trennen. Harn oder Schweiss kann man ohne Weiteres mit verdünnter Phosphorsäure versetzt behufs dieser Trennung der Destillation unterwerfen; allerdings können dabei im Harne durch Einwirkung der Säure auf gewisse Stoffe fette flüchtige Säuren gebildet werden[1]), auch kann es sich ereignen, dass Benzoësäure aus dem Harn in das Destillat übergeht, welche dann besonders die Gruppe der Capron-, Capryl-, Caprinsäure verunreinigen würde, wenn Glieder derselben vorhanden sind. Se-

---

[1]) Buliginsky, Med. chem. Untersuchungen, herausgeg. von Hoppe-Seyler. Heft 2. S. 240. (1867.)

röse Flüssigkeiten, die frei von Blutfarbstoff sind, werden am Einfachsten mit dem mindestens dreifachen Volumen Alkohol kalt gefällt, filtrirt, das Filtrat nöthigenfalls nach Zusatz von etwas kohlensaurem Natron durch Abdestilliren des Alkohols concentrirt, dann auf dem Wasserbade auf ein kleines Volumen verdunstet und der Rückstand nach Zusatz von verdünnter Phosphorsäure destillirt. Blut, sowie bluthaltige Organe können erst dann auf flüchtige Säuren geprüft werden, nachdem nicht allein die Eiweissstoffe gefällt sind, sondern auch der Blutfarbstoff unzersetzt abgeschieden ist. Es würde sich dies auf zwei Wegen erreichen lassen, entweder kann man nach Mischung des Blutes mit verdünnter Lösung von schwefelsaurem Natron resp. nach Extraction der zerkleinerten Organe mit einer solchen Lösung die Blutkörperchen sich senken lassen, die abgegossene blutfarbstofffreie oder doch wenigstens blutfarbstoffarme Lösung eindampfen und nach Abfiltriren der Albuminstoffe mit verdünnter Phosphorsäure destilliren, oder das Blut bezw. die zerkleinerten Organe mit möglichst kaltem Alkohol schnell gut zusammenrühren unter Einsetzen in eine Kältemischung, kalt filtriren und das Filtrat, wie es oben für seröse Flüssigkeiten angegeben ist, weiter behandeln. Fäces extrahirt man zunächst mit Alkohol, filtrirt, neutralisirt mit kohlensaurem Natron, dampft zur Trockne ab und destillirt den Rückstand in Wasser vertheilt mit verdünnter Phosphorsäure. Man setzt in allen Fällen die Destillation so lange fort, bis das Destillat nicht mehr sauer reagirt. Um das Destillat zu concentriren, übersättigt man mit kohlensaurem Natron, dampft im Wasserbade auf ein kleines Volumen ein, fügt verdünnte Phosphorsäure im Ueberschuss hinzu und destillirt abermals.

Trennung. Von dem Destillat prüft man eine Probe nach Sättigung mit Ammoniak durch Kochen mit Silbernitrat auf Ameisensäure (Reduction von Silber). Das übrige Destillat sättigt man mit reinem Chlorcalcium und trennt im Scheidetrichter eine etwa abgeschiedene Oelschicht ab (ist ihre Quantität sehr gering, so filtrirt man die Oeltropfen haltige Flüssigkeit durch ein mit Chlorcalciumlösung getränktes Papierfilter ab). Die ölig abgeschiedenen Säuren werden, wenn genügende Quantität zu Gebote steht, fractionirter Destillation unterworfen, wobei das längere Beharren einer Siedetemperatur sofort zu erkennen giebt, welche Säure hauptsächlich vorhanden ist. Die Fractionen, welche hauptsächlich Essigsäure und Propionsäure enthalten, werden nöthigenfalls nach nochmaliger Fractionirung zweckmässig mit Ammoniak gesättigt und in hinreichend concentrirter wässeriger Lösung durch fractionirte Fällung mit Silbernitrat in Silbersalze verwandelt. Die Wägung und Analyse derselben ergiebt die Menge und Zusammensetzung dieser fetten Säuren. Ameisensäure lässt sich auch durch die Unlöslichkeit ihres Zinksalzes in absol. Alkohol, Propionsäure durch die Unlöslichkeit ihres basischen Bleisalzes von diesen Säuren und der Butter-

säure abtrennen (Haberland[1]). Die Fractionen, welche hauptsächlich Buttersäure, Isobuttersäure, Isovaleriansäure enthalten können, werden ebenso zu behandeln sein, wenn es sich nicht gerade um Entscheidung zwischen normaler und Isobuttersäure handelt, für welche die Schwerlöslichkeit des buttersauren Kalkes in heissem Wasser, die unvollständige Löslichkeit der freien Isobuttersäure in wenig Wasser und das verschiedene Verhalten der Guanaminverbindungen (§§ 62 und 63) die Unterschiede ergeben. Capronsäure kann durch Waschen mit etwas Wasser von Buttersäure befreit werden. Capron-, Capryl-, und Caprinsäure können durch fractionirte Fällung und Krystallisation der Barytsalze nach vorausgehender fractionirter Destillation (vergl. oben § 67 am Ende) getrennt werden. Die Barytsalze dieser Säuren bildet man durch Uebersättigen mit Barytwasser, Einleiten von Kohlensäure, Abdampfen zur Krystallisation, Extraction mit heissem Wasser, Filtriren und Abdampfen zur Krystallisation. Die durch Chlorcalcium nicht abgeschiedenen Ameisensäure und Essigsäure werden durch Destillation vom Chlorcalcium befreit, das wässerige Destillat wird mit Barytwasser alkalisch gemacht und weiter, wie eben beschrieben, behandelt.

Die Baryt- und Kalksalze der fetten Säuren können für die Analyse ohne Nachtheil bei 150° getrocknet, die Silbersalze dürfen nicht über 100° erhitzt werden. Den Silbergehalt erhält man durch Glühen gewogener Quantität des Salzes im Porzellantiegel, den Barytgehalt nach Veraschung durch Lösen in Salzsäure, Fällung mit Schwefelsäure und Bestimmung des schwefelsauren Baryts, den Calciumgehalt durch Glühen im Gebläse oder Hempel'schen Ofen und Wägung des Calciumoxyds.

72. **b) der höheren Fettsäuren.** Bei der Destillation wässeriger Flüssigkeiten mit Phosphorsäure geht von den höheren Fettsäuren (§§ 68—70) nur die Laurinsäure in geringer Menge über. Da diese Säuren aber in Wasser und verdünnter Säure unlöslich, in Aether leicht löslich sind, so lassen sie sich bequem vom grössten Theile der mit ihnen in thierischen Flüssigkeiten und Geweben zusammen auftretenden Stoffe trennen. Man extrahirt (§ 4) entweder, wenn man auf die freien Säuren untersuchen will, die hinreichend concentrirten Flüssigkeiten, breiigen Massen oder fein pulverisirten, festen Stoffe mit Aether, lässt einige Zeit stehen und giesst dann die Aetherlösung ab, oder man fügt, wenn man auf die an Basen gebundenen Säuren prüfen will, zunächst verdünnte Schwefelsäure zu der zu untersuchenden Masse und extrahirt nun mit Aether u. s. w. Die klare Aetherlösung schüttelt man in einer Flasche mit etwas Natronlauge, giesst dann nach einiger Zeit den Aether ab, wäscht die Lauge noch einige Male zur Entfernung der Fette, die etwa im Aetherextracte enthalten sind, mit etwas Aether und erwärmt dann die Lauge auf dem Wasserbade zur Entfernung des in derselben gelösten Aethers. Abscheidung.

[1]) Zeitschr. f. analyt. Chem. **38**, 217. (1899.)

Trennung. Nun leitet man Kohlensäure zur Sättigung des freien Alkalis in die Lauge ein, dampft zur Trockne ab, extrahirt den Rückstand mit heissem Alkohol, filtrirt, fällt die alkoholische Lösung mit essigsaurem Blei, dampft das Ganze zur Trockne ein und extrahirt den Rückstand mit Aether, welcher nur das ölsaure Blei aufnimmt. Man filtrirt die ätherische Lösung ab, schüttelt sie mit verdünnter Salzsäure in einem mit Kohlensäure vorher gefüllten Gefässe, giesst dann die ätherische Lösung ab und destillirt aus einem mit Kohlensäure gefüllten Kolben den Aether ab. Es bleibt Oelsäure zurück. Der in Aether unlösliche Rückstand, welcher die Bleisalze der Palmitinsäure, Stearinsäure und der übrigen Fettsäuren enthält, wird in heissem Alkohol fein zertheilt und mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Man filtrirt heiss, dampft das Filtrat mit Soda zur Trockne ab, nimmt den Rückstand mit Wasser auf und fällt durch Uebersättigen mit Salzsäure die freien Säuren*) aus. Um die Säuren gut abzuscheiden, erhitzt man die Flüssigkeit zum Kochen, lässt abkühlen und filtrirt nach dem Erstarren des Säuregemisches. Zur Prüfung des Schmelzpunktes erwärmt man wieder bis zum Schmelzen, saugt etwas von dem Oel in ein Capillarrohr und verfährt nach § 24. Man ermittele ausser dem Schmelzpunkt, auch den Erstarrungspunkt und vergleiche die erhaltenen Zahlen mit den in der Tabelle (§ 69) aufgeführten. Nunmehr löst man in heissem Alkohol, fügt zur Sättigung der Säuren hinreichende Lösung von kohlensaurem Natron hinzu und dampft auf dem Wasserbade zur Trockne ab, erhitzt noch im Luftbade auf 130°, extrahirt dann den fein gepulverten Rückstand mit kochendem absoluten Alkohol und filtrirt heiss. Diese Lösung der Natronsalze wird nun fractionirt gefällt; man erhitzt sie zu dem Zweck wieder auf dem Wasserbade bis nahe zum Sieden, fügt dann zunächst 1—2 Tropfen Lösung von Chlorbarium oder von essigsaurem Baryt hinzu, filtrirt schnell, erhitzt das Filtrat wieder zum Sieden, fügt eine neue kleine Portion Barytsalzlösung hinzu und filtrirt heiss durch ein anderes Filterchen und fährt in dieser Weise fort, bis ein neuer Zusatz von Barytsalz zur alkoholischen Lösung keinen weiteren Niederschlag giebt. Der erste Barytniederschlag kann etwas kohlensauren Baryt enthalten; die übrigen Niederschläge untersucht man nach dem Waschen mit warmem Alkohol und Trocknen bei 120° in derselben Weise auf ihren Barytgehalt, wie es im vorigen Paragraphen für die Barytsalze der anderen Glieder der Gruppe der Fettsäuren angegeben ist. Es enthalten

*) Um beigemengte Cholsäure (z. B. bei Untersuchung von Faeces) abzutrennen, löst man das Säuregemisch in Aether, schüttelt die ätherische Lösung der Säuren mit überschüssigem Barytwasser gut zusammen, filtrirt den Niederschlag ab, wäscht ihn mit wenig kochendem Wasser mehrmals aus, zuletzt mit warmem Alkohol, zerlegt das zurückbleibende Barytsalz mit Salzsäure und wäscht mit Wasser gut aus. Es bleiben die Fettsäuren, frei von Cholsäure, zurück.

100 Gew.-Thle. Palmitinsaurer Baryt 21,20 Gew.-Thle. Barium,
" " " Stearinsaurer " 19,50 " " "

Steht nicht so viel Material zu Gebote, um die angegebenen Untersuchungen auszuführen, so kann man durch das Verhalten der mit Aether extrahirten Substanzen gegen Alkalien und Säuren, Schmelzen beim Erwärmen und Krystallisation der heissen alkoholischen Lösung beim Erkalten wohl mit Wahrscheinlichkeit ein Gemisch höherer Fettsäuren erkennen, aber man weiss nichts über seine einzelnen Bestandtheile.

Oxysäuren.

73. **Milchsäure $C_3H_6O_3$.** Von den 2 structurisomeren Oxypropionsäuren, der Aethylenmilchsäure (Hydracrylsäure) und der Aethylidenmilchsäure kommt nur die letztere in den Organismen vor. Von ihr existiren drei Modificationen, zwei optisch active (d- und l-Milchsäure) und eine inactive (i-Milchsäure), welche aus einer Vereinigung gleicher Mengen der beiden activen Formen besteht.

CH_3
|
$CH(OH)$
|
$COOH$

Vorkommen.

Die i-Milchsäure („Gährungsmilchsäure") findet sich häufig, wenn nicht constant, im Magen- und Darminhalt von Menschen und Säugethieren, nach Heintz[1]) auch in den Muskeln, nach Gscheidlen in der grauen Substanz des Gehirns. Sie entsteht beim Erhitzen von Rohr-, Milch-, Frucht- und Traubenzucker, Mannose, Galactose mit mässig verdünnter Alkalilauge und vor Allem bei der sog. Milchsäuregährung, welche Kohlehydrate durch bestimmte Microorganismen erfahren. So bildet sie sich bei dem Sauerwerden der Milch aus Milchzucker, bei der Gährung des Sauerkohls, der Gurke u. s. w. In der sauren Milch kommt auch häufig d-Milchsäure oder auch ein Gemisch beider vor. Die d-Milchsäure („Fleischmilchsäure" oder „Paramilchsäure") findet sich in den Muskeln und also auch im Fleischextract; sie ist in Galle, Blut, Pericardialflüssigkeit, Humor aqueus, Darminhalt nachgewiesen. Im Harn kommt sie normaler Weise nicht vor, wird aber gefunden bei acuter gelber Leberatrophie und Phosphorvergiftung, zuweilen bei Lebercirrhose, ferner in solchen Zuständen, die mit Respirationsstörungen einhergehen, z. B. starken körperlichen Anstrengungen, nach epileptischen Anfällen, kurz vor dem Tode bei verschiedenen Krankheiten. Aus pathologischen Transsudaten wird sie oft reichlich gewonnen. Die bei Osteomalacie in den Knochen, beim Puerperalfieber im Schweiss gefundene Milchsäure ist wahrscheinlich gleichfalls d-Milchsäure. Die l-Milchsäure ist bisher im Körper nicht gefunden worden. Auch diese beiden activen Modificationen entstehen durch die Einwirkung bestimmter Bacterien auf Kohlehydrate. l-Milchsäure wurde zuerst von Blachstein[2]) durch Ein-

---

[1]) Ann. Chem. Pharm. **157.** 320 (1871); vergl. auch Siegfried, Ber. d. d. chem. Ges. **22.** 2711. (1889.)

[2]) Monatsh. f. Chem. **11.** 545. (1890.)

wirkung eines aus Wasser gezüchteten Bacillus auf Rohrzucker erhalten, sie bildet sich auch bei der Zersetzung von Zucker durch Typhusbacillen, Choleravibrionen u. s. w. Andere Bacterien, z. B. ein regelmässig in saurer Milch vorkommendes, erzeugen d-Milchsäure.

Darstellung der inactiven Säure. Synthetisch erhält man die i-Milchsäure aus Aldehyd, Blausäure und Salzsäure, durch Einwirkung von salpetriger Säure auf i-Alanin, durch Behandlung von α-Jodpropionsäure mit Silberoxyd und auf andere Weise.

Zur Darstellung grösserer Mengen der i-Milchsäure versetzt man Rohrzuckerlösung mit saurer Milch und Zinkoxyd und lässt unter öfterem Umrühren bei warmer Temperatur einige Zeit stehen. Die abgesetzten Krusten von milchsaurem Zink werden in heissem Wasser gelöst. Die Lösung wird filtrirt, noch heiss mit Schwefelwasserstoff behandelt, vom ausgeschiedenen Schwefelzink abfiltrirt und auf dem Wasserbade verdunstet. Dem syrupartigen Rückstande entzieht man durch Schütteln mit Aether die freie Milchsäure, welche nach dem Verdunsten des Aethers zurückbleibt.

Isolirung. Zur möglichst vollständigen Isolirung der Milchsäure aus Muskeln*), Galle, serösen Flüssigkeiten u. s. w. dient das folgende Verfahren. Das Fleisch wird zerkleinert, mit kaltem Wasser mehrmals extrahirt, abcolirt und ausgepresst, das Extract oder die sonst zur Darstellung benutzte und wenn nöthig vorher mit verdünnter Schwefelsäure schwach angesäuerte Flüssigkeit durch Kochen und Filtration von Eiweissstoffen befreit, mit Barytwasser versetzt, so lange Niederschlag erfolgt und nach Ausfällen des überschüssigen Baryts durch einen Kohlensäurestrom zum dünnen Syrup eingedampft. Um Braunfärbung zu vermeiden, erhitzt man zuletzt nicht über 70°. Den Syrup mischt man mit absolutem Alkohol, fügt allmählich mehr und mehr Alkohol hinzu bis mindestens zum zehnfachen Volumen des Syrup, rührt gut um, lässt kurze Zeit stehen und giesst dann ab. Der Rückstand wird in wenig Wasser wieder gelöst und abermals mit Alkohol in gleicher Weise behandelt. Von den abgegossenen und filtrirten alkoholischen Lösungen wird der Alkohol abdestillirt und der dünne syrupöse Rückstand auf dem Wasserbade bei mässiger Wärme zur Entfernung des Alkohols digerirt. Nach dem Erkalten fügt man zum rückständigen dicklichen Syrup ungefähr das gleiche Volumen mässig verdünnter Phosphorsäure, bringt diese Mischung in eine grosse Flasche und schüttelt darin mit grossen Mengen Aether, welche die Milchsäure bei häufiger Erneuerung der aufgegossenen Aethermengen allmählich vollständig, zugleich aber auch etwas Phosphorsäure aufnehmen. Von den klar abgegossenen und filtrirten Aetherauszügen wird der Aether abdestillirt. Den Rückstand löst man in Wasser, kocht die Lösung einige Zeit mit überschüssigem Zinkcarbonat, filtrirt, wäscht mit heissem Wasser aus, dampft das Filtrat auf ein kleines Volumen auf dem Wasserbad ein und lässt

---

*) Am Vollständigsten erhält man aus Muskeln nach Heffter (Arch. f. exp. Path. und Pharm. 38. 447 (1897)) die Milchsäuren mittelst Alkoholextraction.

zur Krystallisation stehen; durch Zusatz von etwas Alkohol zur Mutterlauge und Stehenlassen werden weitere Krystalle erhalten. Aus der heissen wässrigen Lösung des Zinksalzes kann durch Schwefelwasserstoff das Zink als Sulfid ausgefällt und nach Filtration und Verdampfen auf dem Wasserbad zum Syrup die Milchsäure erhalten werden.

Darstellung der activen Säuren.

Aus der i-Milchsäure lassen sich die activen Säuren herstellen durch fractionirte Krystallisation des Strychninsalzes, indem das d-milchsaure Strychnin leichter löslich ist, als das l-milchsaure Salz (Purdie und Walker[1]) oder auch durch Eintragen einer kleinen Spur krystallisirten d- oder l-Zinkammoniumlactats in eine concentrirte, durch Abkühlen übersättigte wässrige Lösung des i-Doppelsalzes. Es scheidet sich dann das Doppelsalz der entsprechenden activen Säure ab (Purdie[2]). Manche Microorganismen assimiliren in einer Nährlösung, welche i-Milchsäure enthält, den einen Componenten schneller als den andern, so z. B. Penicillium glaucum die l-Säure schneller als die d-Säure, so dass auf diese Weise auch aus der i-Säure active erhalten werden kann (Lewkowitsch[3]).

Eigenschaften der Säuren.

Die inactive und die activen Milchsäuren stellen syrupöse Flüssigkeiten dar. Die käufliche, durch Destillation im Vacuum gereinigte Gährungsmilchsäure krystallisirt bei starker Kälte (Krafft und Dyes[4]). Entsprechende Versuche mit den activen Säuren liegen nicht vor. Sie mischen sich in allen Verhältnissen mit Wasser, Alkohol, Aether, besitzen stark saure Reaction und rein sauren Geschmack, verflüchtigen sich beim Kochen ihrer Lösungen nicht unerheblich mit den Wasserdämpfen und bilden mit Metallen wohl charakterisirte neutrale Salze. Durch längeres Erhitzen, auch schon bei langem Stehen über Schwefelsäure bei gewöhnlicher Temperatur verlieren sie allmählich Wasser, indem sich Anhydride bilden. Längere Zeit auf 150° in trokenem Luftstrom erhitzt, gehen sie in Lactid $C_6H_8O_4$ (Sm.-P. 124,5°, S.-P. 255°) über, welches in Nadeln krystallisirt und beim Kochen mit Wasser und kohlensaurem Zink in i-Milchsäure übergeführt wird. Man kann also auf diesem von Strecker gefundenen Weg active Milchsäure in inactive umwandeln.

Eigenschaften der Salze.

Die Alkalisalze sind leicht löslich in Wasser. Kali- und Natronsalze krystallisiren nicht. Die Lithionsalze krystallisiren sehr schön, wasserfrei; beim Eindampfen ihrer wässerigen Lösung scheiden sie sich unter eigenthümlichem Spritzeln krystallinisch aus, beim langsamen Erkalten in grossen cholesterinartigen Krystallen (F. Hoppe-Seyler und Araki[5]). Die Baryt- und Bleisalze, welche nicht krystallisiren, sind leicht löslich und können deshalb zur Trennung von den meisten andern organischen Säuren benutzt werden. Die

[1]) Journ. Chem. Soc. **61**. 754. (1892.)
[2]) Ebendas. **63**. 1143. (1893.)
[3]) Ber. d. d. chem. Ges. **16**. 2720. (1883.)
[4]) Ebendas. **28**. 2589. (1895.)
[5]) Zeitschr. f. physiol. Chemie. **20**. 365. (1895.)

Zink- und Calciumverbindungen sind hauptsächlich untersucht und von besonderer Wichtigkeit, weil auf ihrer Verschiedenheit die Unterscheidung der activen und inactiven Säuren vor Allem beruht. Das Zinksalz der i-Milchsäure krystallisirt mit 18,17 pCt. H_2O und entspricht dann der Formel $(C_3H_5O_3)_2$ Zn + 3 H_2O. 1 Theil löst sich bei 15° in 53 Theilen Wasser, in Alkohol ist es unlöslich. Das Zinksalz der activen Säuren $(C_3H_5O_3)_2$ Zn + 2 H_2O enthält nur 12,89 pCt. H_2O. 1 Theil löst sich in 17,5 Theilen Wasser oder 1109 Theilen Alkohol bei 14—15°. Beide verlieren das Krystallwasser bei 110°. Das Kalksalz der i-Säure $(C_3H_5O_3)_2$ Ca + 5 H_2O ist gleichfalls verschieden durch Krystallwassergehalt und Löslichkeit vom Kalksalz der activen Säuren $(C_3H_5O_3)_2$ Ca + 4 H_2O, aber beide krystallisiren in blumenkohlähnlichen Kugeln von feinen mikroskopischen Nadeln. Das Zinkammoniumsalz der i-Säure $(C_3H_5O_3)_3$ $ZnNH_4$ + 3 H_2O ist wenig beständig, das entsprechende Salz der activen Säuren $(C_3H_5O_3)_3$ $ZnNH_4$ + 2 H_2O krystallisirt in kurzen Prismen, ist luftbeständig und in 3—4 Theilen kaltem Wasser löslich (Purdie). Wässerige Lösungen der Milchsäure und ihrer Salze färben eine wässerige Phenollösung, die durch Zusatz von etwas Eisenchlorid violett gefärbt ist, gelb (Uffelmann'sche Reaction).

Optische Eigenschaften. Die d- und l-Milchsäure zeigen nur schwache Rechts- bezw. Linksdrehung. Die spec. Drehung der d-Säure steigt mit zunehmender Concentration (Wislicenus[1]). Hoppe-Seyler und Araki[2]) fanden bei einem Procentgehalt von 11,2 $[\alpha]_D$ im Mittel = + 1,71°, doch war die benutzte Säure nicht krystallisirt, die Lösung also jedenfalls nicht frei von Anhydrid. Die Salze der d-Säure drehen links, die der l-Säure rechts und zwar bei gleicher Concentration gleich stark, die specifische Drehung steigt mit abnehmender Concentration. Hoppe-Seyler und Araki fanden für d-milchsaures Zink bei einem Procentgehalt von 4,18 $[\alpha]_D$ = — 7,55°, bei einem Procentgehalt von 9,08 $[\alpha]_D$ = — 6,56°. Die Lithionsalze zeigen die relativ stärkste specifische Drehung. Für 5,0—11,6 proc. Lösungen betrug $[\alpha]_D$ = — 11,7—13,1°. Weitere Angaben über die specifische Drehung der freien Säure, der Zink-, Kalk-, Lithion- und anderer Salze siehe bei Hoppe-Seyler und Araki und bei Purdie und Walker[3]). Eine Zusammenstellung der gefundenen Werthe findet sich bei Landolt[4]).

Beim Erhitzen mit mässig verdünnter Schwefelsäure in zugeschmolzenem Rohr auf 140° zerfallen die Milchsäuren in Aldehyd und Ameisensäure.

Nachweis. Der Nachweis der Milchsäuren, welcher nur nach vorangegangener Isolirung möglich ist, gründet sich hauptsächlich auf die besprochenen Eigenschaften der Salze, namentlich der Zink- und Lithiumsalze, ferner auf

---

1) Ann. Chem. Pharm. **167.** 302. (1873.)

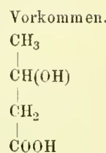
2) a. a. O.

3) Journ. Chem. Soc. **67.** 616. (1896.)

4) Das optische Drehungsvermögen organischer Substanzen. Braunschweig 1898. S. 469.

die Umwandlung in Aldehyd und Ameisensäure. Es ist durchaus unzulässig, lediglich aus der Krystallform der Zinksalze oder aus dem positiven Ausfall der Uffelmann'schen Reaction auf Milchsäure zu schliessen.

74. **β-Oxybuttersäure $C_4H_8O_3$.** Von der β-Oxybuttersäure ist nur die l-Modification nachgewiesen. Sie findet sich nicht selten bei schweren Fällen von Diabetes im Harn[1]), ist aber auch bei verschiedenen anderen Krankheiten, wie Masern, Scharlach, Diphtherie, Skorbut, ferner bei unzureichender Ernährung zuweilen im Harn gefunden, stets in Begleitung von Acetylessigsäure. Hugounenq[2]) wies sie im Blut eines Diabetikers nach. Vorkommen.



Synthetisch erhält man die inactive β-Oxybuttersäure durch Einwirkung von Natriumamalgam auf Acetylessigaether (Wislicenus[3]). Es ist bisher nicht gelungen, aus ihr die inactiven Formen zu gewinnen. Darstellung.

Zur Darstellung aus Harn entfernt man zunächst vorhandenen Zucker durch Vergährung und verfährt dann nach einer der folgenden Vorschriften. 1. Nach E. Külz.[4]) Man dampft zum dünnen Syrup ein, neutralisirt mit Natronlauge und concentrirt weiter. Der Syrup wird mit dem dreifachen Volumen 95 proc. Alkohol gefällt und filtrirt, das Filtrat destillirt, der Rückstand mit absolutem Alkohol gefällt und Filtration, Destillation und Fällung so oft wiederholt, bis absoluter Alkohol keinen Niederschlag mehr giebt. Nach dem Abdestilliren des Alkohols wird dreimal mit dem gleichen Volumen Aether ausgeschüttelt, der vom Aether nicht gelöste Rückstand mit Schwefelsäure übersättigt und so oft mit grossen Mengen Aether ausgeschüttelt, bis sich in dem Auszug keine Linksdrehung mehr nachweisen lässt. Die beim Abdestilliren des Aethers zurückbleibende Säure wird in Wasser gelöst, in das Barytsalz übergeführt und dieses durch eine concentrirte ammoniakalische Lösung von Silbersulfat in das Silbersalz umgewandelt. Die abfiltrirte Flüssigkeit, theils bei gelinder Wärme, theils im Vacuum über Schwefelsäure von überschüssigem Ammoniak befreit und concentrirt, lässt oxybuttersaures Silber in wohl ausgebildeten Krystallen herauskommen. Durch mehrfaches Umkrystallisiren aus Wasser wird es gereinigt und durch Salzsäure in die freie Säure übergeführt. 2. Nach Stadelmann[5]). Der Harn wird zur Entfernung des Harnstoffes so lange mit überschüssiger frischer Kalkmilch gekocht, bis kein Ammoniak mehr entweicht, zum Syrup verdunstet und mit Alkohol extrahirt. Man verdampft den

---

[1]) E. Külz, Zeitschr. f. Biologie. **20.** 165 (1884) und **23.** 329 (1887.)
Minkowski, Arch. f. exp. Path. und Pharm. **18.** 35 u. 147 (1884.)
R. Külz, Ebendas. **18.** 291 (1884).
Deichmüller, Szymanski u. Tollens, Ann. Chem. Pharm. **228.** 92. (1885.)

[2]) Compt. rend. soc. biol. 1887. p. 161.

[3]) Ann. Chem. Pharm. **149.** 205. (1869.)

[4]) Zeitschr. f. Biolog. **23.** 329. (1887.)

[5]) Zeitschr. f. Biolog. **23.** 456. (1887.)

Alkohol, nimmt den Rückstand in Wasser auf, säuert mit Schwefelsäure an und schüttelt mit Aether aus. Die beim Verdunsten des Aethers hinterbleibende Säure wird in Wasser gelöst und in das Zinksalz verwandelt. Nach dem Einengen krystallisirt oxybuttersaures Zink. Dasselbe lässt sich durch Waschen mit absolutem Alkohol und Umkrystallisiren aus Wasser leicht reinigen. Aus dem Zinksalz gewinnt man mittelst Schwefelwasserstoff die freie Säure.

Eigenschaften. Die Säure wird gewöhnlich syrupartig erhalten, der Syrup kann aber durch Reiben unter plötzlicher Temperaturerhöhung zur Krystallisation gebracht werden (Magnus-Levy[1]). Glashelle plattenförmige Krystalle, die bei 47,5—48° sintern und bei 49—50° schmelzen, leicht in Wasser, Alkohol, Aceton löslich. Die Salze lösen sich leicht in Wasser, schwer in absolutem Alkohol. Die Kalium- und Natriumsalze krystallisiren in zerfliesslichen, die Zink- und Kadmiumsalze in wenig hygroskopischen Nadeln, das Silbersalz in feinen Nadeln oder Schuppen. Die Säure und ihre Salze drehen links. Für 1—11 proc. Lösungen der freien Säure beträgt $[\alpha]_D = -24,12^0$, für 2—12 proc. Lösungen des Na-Salzes*) $[\alpha]_D = -14,35^0$ (Magnus-Levy). Angaben über die specifische Drehung anderer Salze finden sich in den oben citirten Arbeiten. Beim Erhitzen der wässerigen Lösung zerfällt die β-Oxybuttersäure in Wasser und α-Crotonsäure, welche überdestillirt, bei der Oxydation mit Kaliumbichromat und Schwefelsäure liefert sie Aceton.

Nachweis. Zum Nachweis dient folgendes Verfahren von E. Külz[2]). Man prüft den Harn zunächst mit Eisenchlorid auf Acetylessigsäure (siehe § 80). Fällt die Reaction negativ aus, ist auch keine Oxybuttersäure vorhanden. Fällt sie positiv aus, wird der (event. vergohrene) Harn mit Bleizuckerlösung geklärt und mit dem Polarisationsapparat geprüft. Zeigt sich Linksdrehung und wird dieselbe durch Bleiessig und Ammoniak nicht entfernt, so ist ein Gehalt von β-Oxybuttersäure wahrscheinlich. Man dampft dann eine grössere Portion des event. vergohrenen Harns zum Syrup ein, mischt mit dem gleichen Volumen Schwefelsäure und destillirt die Mischung ohne Kühler in ein Probirröhrchen als Vorlage unter starker Kühlung desselben. Unter Umständen scheidet sich bei starker Kühlung bereits eine Krystallisation von α-Crotonsäure aus. Ist dies nicht der Fall, so schüttelt man das Destillat mit Aether aus, giesst die Aetherlösung ab, verdunstet, trennt im Rückstand nöthigenfalls die α-Crotonsäure von Benzoësäure durch Behandlung mit etwas Wasser, in dem sich die α-Crotonsäure leichter auflöst und charakterisirt sie durch den Schmelzpunkt (siehe nächsten Absatz). Dieser Nachweis gelingt meist schon bei 100 ccm Harn.

α-Crotonsäure, $CH_3\text{-}CH = CH\text{-}COOH$, in Nadeln oder Prismen krystallisirend,

---

*) Gegenwart von Bleiacetat steigert die Linksdrehung sehr erheblich.

1) Arch. f. exp. Path. und Pharm. **45**. 389. (1901.)

2) Zeitschr. f. Biolog. **23**. 332. (1887.)

schmilzt bei 72°, siedet bei 184°, löst sich bei 15° in 12 Theilen Wasser. Sie giebt bei der Oxydation mit Chromsäure Aldehyd und Essigsäure, beim Schmelzen mit Aetzkali 2 Mol. Essigsäure, wird durch Natriumamalgan nicht angegriffen. Die Salze krystallisiren gut, das Zinksalz mit $2H_2O$, das Silbersalz ist schwer löslich in Wasser.

Mehrbasische Säuren.

75. **Oxalsäure** $C_2H_2O_4$ kommt bei Menschen und höheren Thieren wohl nur als Kalksalz vor. Im Harn, auch der Pferde, Schweine, Kaninchen, ist dieses Salz wohl stets in sehr geringer Menge vorhanden, reichlicher zuweilen bei Diabetes und Icterus. Beim Menschen scheidet es sich häufig krystallinisch ab, bildet auch oft feste Concremente im Nierenbecken oder in der Harnblase, auch bei Schweinen, oder nimmt Theil an der Steinbildung. In der Gallenblase oder den Faeces ist seltener Calciumoxalat gefunden. Salkowski[1]) fand Oxalsäure stets in der Leber (Kalbs-, Rindsleber) in kleinen Mengen, noch weniger in den Muskeln, nicht im Pancreas. Vorkommen. COOH | COOH

Sie entsteht bei der Oxydation von Zucker mit Salpetersäure, bei der Einwirkung von schmelzenden Alkalien auf Cellulose. Auf diesen Reactionen beruht ihre Darstellung. Darstellung.

Ueber das Verfahren zur Isolirung der Oxalsäure aus dem Harn, das auch zur quantitativen Bestimmung dient, siehe bei „Untersuchung des Harns". Um sie aus den Organen zu isoliren, wird das feinzerhackte Gewebe mit dem mehrfachen Volumen Wasser digerirt, die Masse aufgekocht, colirt, abgepresst, gewaschen, das Filtrat stark eingedampft und nach dem Ansäuern mit Salzsäure mit Aether ausgeschüttelt. Der Aetherrückstand wird in Wasser aufgenommen, die wässrige Lösung mit Ammoniak, dann mit Chlorcalcium und Essigsäure versetzt. Der Niederschlag ist mikroskopisch und in der unten beschriebenen Weise auf oxalsauren Kalk zu prüfen. Häufig entstehen bei der Ausfällung Trübungen, die von der Gegenwart von Fettsäuren herrühren. Die mikroskopische Untersuchung schützt vor Verwechselungen (Salkowski). Isolirung.

Die Oxalsäure krystallisirt mit 2 Mol. H_2O in feinen monoklinen Prismen, die in Wasser und Alkohol leicht, in Aether wenig löslich sind. Sie verflüchtigt sich beim Erhitzen ohne Kohlebildung und wird durch Oxydation mit Permanganat in Kohlensäure und Wasser zerlegt. Von den Salzen lösen sich nur die Alkalisalze in Wasser. Eigenschaften.

Der oxalsaure Kalk $C_2O_4Ca + 3H_2O$ bildet sehr harte, meist mikroskopische Krystalle in der Form tetragonaler Octaëder, deren eine Axe etwas kürzer ist als die beiden anderen; die Krystalle sind stets farblos, Ecken und Kanten scharf ausgebildet. Bei schneller Abscheidung krystallisirt er auch mit 1 Mol. H_2O in Plättchen. Zuweilen erscheint das Salz in der Form mikroskopischer rundlicher Knollen und Dumbbells. Das Salz ist

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie. **29**. 448. (1900.)

unlöslich in Wasser, Alkohol, Aether, ebenso unlöslich in Ammoniak, kohlensauren Alkalien, fast ganz unlöslich in Essigsäure, etwas löslich in verdünnter oder concentrirter Milchsäure, auch in Lösungen von phosphorsaurem oder harnsaurem Natron. In Salzsäure gelöst giebt der oxalsaure Kalk beim Verdunsten der Lösung ein Doppelsalz von Chlorcalcium mit oxalsaurem Kalke, welches in grossen rhombischen Tafeln krystallisirt und sich beim Zusatz von Wasser zerlegt. Beim schwachen Glühen wird oxalsaurer Kalk ohne Verkohlung in kohlensauren Kalk verwandelt.

Nachweis. Zum Nachweis von oxalsaurem Kalk im Harn auch bei stark saurer Reaction lässt man ihn einige Zeit stehen und bringt das vielleicht kaum erkennbare Sediment, oft nur eine schleimige Nubecula, unter das Mikroskop. Die Krystalle vergrössern und vermehren sich gewöhnlich beim Stehen des Harnes während einiger Tage. Die Form der Krystalle (Briefcouvertform*), ihre Unlöslichkeit in Ammoniak, in Essigsäure, Löslichkeit in Salzsäure dienen dann zur Erkennung. Indessen kann die Krystallabscheidung auch bei Anwesenheit von oxalsaurem Kalk ausbleiben. In solchen Fällen verfährt man wie später bei „Untersuchung des Harns" angegeben. In Concrementen weist man den oxalsauren Kalk durch Lösen in verdünnter Salzsäure, Fällen der abfiltrirten Lösung mit Ammoniak, Abfiltriren und Behandlung des Niederschlages mit Essigsäure nach. Den in Essigsäure unlöslichen körnigen oder feinpulverigen Niederschlag trocknet man, bringt ihn auf ein Platinblech, glüht schwach und prüft nach dem Erkalten, ob der Rückstand in Säuren, auch in Essigsäure, unter Aufbrausen löslich ist und die Lösung durch oxalsaures Ammoniak gefällt wird. Ist das der Fall, findet sich also in dem Glührückstande kohlensaurer Kalk, so war oxalsaurer Kalk in der zu prüfenden Substanz. Um Oxalsäure in Geweben nachzuweisen, verfährt man so, wie es oben für die Abscheidung angegeben ist.

Vorkommen. CH_2-COOH | CH_2-COOH

76. **Bernsteinsäure $C_4H_6O_4$.** Die Bernsteinsäure ist in geringen Mengen in vielen thierischen Flüssigkeiten, im Saft verschiedener Organe (Milz, Thymus, Thyreoidea), zuweilen in Hydrocephalus- und Hydroceleflüssigkeiten, stets reichlich in Echinococcusflüssigkeiten gefunden, ferner im Wollschweiss. Sie bildet sich bei der bacteriellen Zersetzung der Eiweissstoffe und Kohlehydrate, findet sich z. B. häufig in saurer Milch, im Darminhalt, im jauchigen Eiter. Sie entsteht bei der alkoholischen Gährung des Zuckers. Die Angaben über das Vorkommen im Blut und normalen Harn, reichlicher im Harn von Hunden bei Fett- und Fleischnahrung (Meissner[1]), ferner reich-

*) Gelegentlich sieht man auch quadratische Prismen mit pyramidalen Endflächen (den Krystallen von Ammoniummagnesiumphosphat ähnlich) und im Pferdeharn ausserdem kugelige oder knollige Formen, Sanduhrformen, Dumbbells vergl. Feser u. Friedberger referirt in Maly's Jahresber. 1874. S. 231.

[1]) Meissner und Jolly, Zeitschr. f. rat. Med. (3.) **24.** 97.

Meissner und Shepard, Untersuchungen über das Entstehen der Hippursäure im thierischen Organismus. Hannover 1866.

lich im Menschenharn nach asparaginhaltigen Nahrungsmitteln (Hilger[1]) sind nicht bestätigt worden (Salkowski[2]), Longo[3]).

Die Bernsteinsäure entsteht durch Verseifung von Aethylencyanid, ferner aus Aepfelsäure und Weinsäure durch Reduction mit Jodwasserstoff und durch bacterielle Zersetzung dieser beiden Säuren. Letztere Bildungsweise dient zu ihrer Darstellung. Darstellung.

Zur Isolirung aus thierischen Geweben und Flüssigkeiten extrahirt man den Verdampfungsrückstand der Flüssigkeiten (der wässerigen von Eiweiss durch Kochen bei schwach saurer Reaction befreiten Organauszüge, des enteiweissten Blutes, des mit Barytwasser ausgefällten und vom überschüssigen Barium durch Schwefelsäure befreiten Harns) nach Ansäuern mit Salzsäure zu wiederholten Malen mit Aether, verdunstet den Aether, nimmt den Rückstand in wenig Wasser auf und lässt die Lösung zur Krystallisation stehen. Neubauer empfiehlt die wässrige Lösung des Aetherrückstandes zum Kochen zu erhitzen, tropfenweise mit Salpetersäure zu versetzen, bis nur noch gelbe Färbung vorhanden ist, und dann zur Krystallisation einzudampfen. Die ausgeschiedenen Krystalle sind auf Bernsteinsäure zu prüfen. Isolirung.

Die Bernsteinsäure bildet farblose vierseitige Nadeln oder sechsseitige Tafeln, die bei 182° schmelzen zu einer Flüssigkeit, die bei 235° unter theilweiser Zersetzung zu Anhydrid und Wasser siedet. Schon bei 120° entwickeln sich Nebel beim Erhitzen der Säure, welche eingeathmet heftig zum Husten reizen, eigenthümlich schmecken und riechen. 1 Theil Bernsteinsäure löst sich in 14—15 Theilen Wasser von 20°, leichter in heissem, leicht in heissem Alkohol, sehr wenig in Aether, doch geht sie beim Schütteln ihrer wässerigen Lösung mit viel Aether in diesen über. Bernsteinsaure Alkalisalze sind in Wasser leicht löslich, in Alkohol unlöslich, ebenso in Aether. Kalk- und Barytsalz sind in Wasser schwer, Magnesia- und Manganoxydulsalz leicht löslich. Eisenchlorid bringt in neutralen Lösungen bernsteinsaurer Salze einen in Wasser unlöslichen, braunen, flockigen Niederschlag hervor. Durch Salpetersäure wird sie nicht zersetzt, mit Kalihydrat erhitzt giebt sie Oxalsäure, mit Braunstein und Schwefelsäure Essigsäure, mit Ammoniak und Zinkstaub geglüht Pyrrol. Bei Anwesenheit eines Uransalzes zerfällt sie in wässeriger Lösung, dem direkten Sonnenlichte ausgesetzt, in Propionsäure und Kohlensäure. Eigenschaften.

Dem Nachweis muss die Isolirung in der oben beschriebenen Weise vorangehen. Gelingt es nicht, aus dem Aetherrückstand die Bernsteinsäure krystallinisch zu erhalten und an ihren charakteristischen Eigenschaften zu erkennen, so glüht man nach Neuberg[4]) einen Theil des Rückstandes in einem Reagensglase mit Ammoniak und Zink- Nachweis.

---

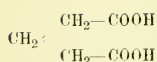
[1]) Ann. Chem. Pharm. **171**. 208. (1874.)

[2]) Arch. f. d. ges. Physiol. **2**. 367 (1869) und **4**. 95. (1871.)

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chemie. **1**. 213. (1877—1878.)

[4]) Zeitschr. f. physiol. Chemie. **31**. 574. (1900—1901.)

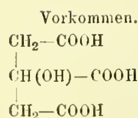
staub und hält nach Vertreibung des überschüssigen Ammoniaks in die Oeffnung einen mit starker Salzsäure befeuchteten Fichtenspahn (Streichholz). Eine Rothfärbung (Pyrrol) zeigt Bernsteinsäure an. Eine Verwechselung ist nur mit Haemin und Indolderivaten möglich. Sind diese Stoffe vorhanden, so tritt die Reaction schon beim Erhitzen allein (Indolabkömmlinge) oder nach Zusatz von Zinkstaub (Haemin) ein. In diesem Falle müssen diese störenden Substanzen zunächst entfernt werden. Zur Trennung von Haemin nimmt man den trockenen Aetherrückstand noch einmal mit wasserfreiem Aether auf, filtrirt und verdunstet. Der Rückstand ist jetzt frei von Haemin. Zur Entfernung von Indolderivaten versetzt man mit Natronlauge bis zur alkalischen Reaction und leitet kurze Zeit einen Dampfstrom hindurch. Wenn nach einigen Minuten keine fichtenspahnröthenden Dämpfe mehr entwickelt werden, so sind die Indolbasen*) entfernt und man stellt nun nach Neutralisation mit Schwefelsäure und Zusatz von Ammoniak, Eindampfen auf kleines Volumen, Zufügen von einigen Krystallen Ammoniumphosphat und Zinkstaub die Reaction an.



77. **Glutarsäure $C_5H_8O_4$.** Die Glutarsäure oder normale Pyroweinsäure ist von Brieger[1]) neben Bernsteinsäure im jauchigen Eiter gefunden, sie ist auch im Wollschweiss vorhanden und im Rübensaft nachgewiesen. Diese Säure ist synthetisch aus Propylencyanid durch Verseifung, ferner durch Reduction aus Oxyglutarsäure oder Glutaminsäure dargestellt, bildet grosse flache Tafeln, leicht löslich in Wasser, schmilzt bei 97,5°, siedet bei 302° fast ohne Zersetzung. Das Calciumsalz $C_5H_6O_4Ca + 2H_2O$ löst sich leicht in kaltem, schwer in heissem Wasser, krystallisirt schwer, das Zinksalz löst sich bei 18° in 102 Thl. Wasser, in heissem Wasser noch schwerer.

Brieger säuerte jauchigen Eiter mit Schwefelsäure stark an und schüttelte mit Aether aus, entfernte dann durch Baryt die Schwefelsäure, versetzte das Filtrat mit Bleiessig, filtrirte, entfernte das Blei durch Schwefelwasserstoff, engte dann die Flüssigkeit auf dem Wasserbade ein, behandelte mit Barytwasser, entfernte den Bariumüberschuss durch Kohlensäure, und erhielt aus dem Filtrat Barytsalze, welche mehrmals mit Schwefelsäure zersetzt und wieder gebildet und hierdurch gereinigt wurden. Die freigemachten Säuren wurden mit Thierkohle entfärbt und in die Kalksalze verwandelt, diese durch Krystallisation in bernsteinsauren und glutarsauren Kalk getrennt. Die freigemachte Glutarsäure schmolz bei 98° und war unzersetzt flüchtig.

Vorkommen.



78. **Citronensäure $C_6H_8O_7$.** Citronensäure, weit verbreitet in höheren und niederen Pflanzen, findet sich auch in der Milch von Menschen, Kühen, Ziegen als regelmässiger Bestandtheil, der nicht aus der Nahrung herstammt[2]).

Darstellung.

Synthetisch erhält man die Citronensäure aus Acetondicarbonsäure und

---

*) Skatolcarbonsäure und Skatolessigsäure sind allerdings nicht mit Wasserdämpfen flüchtig, sie lassen sich aber in Form ihrer unlöslichen Nitrosoderivate aus der Lösung entfernen.

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **5**. 366. (1881.)

[2]) Th. Henkel, Molkereizeitung. **2**. 259, citirt nach Chem. Centralbl. 1888. S. 1561. Derselbe, Die landwirthschaftl. Versuchsstationen. **39**. 143. (1891.) A. Scheibe, Ebendas. **39**. 153. (1891.)

Blausäure und auf andere Weise. Dargestellt wird sie aus Citronensaft als Kalksalz oder auch aus Traubenzucker durch Einwirkung gewisser Schimmelpilze.

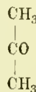
Zur Isolirung aus Milch, bringt man Kuhmilch durch Zusatz einer Säure zur Gerinnung, filtrirt, neutralisirt das Filtrat fast mit Aetzkalk, filtrirt wieder und dampft ein. Es scheidet sich ein krystallinischer Niederschlag ab, der zu mehr als $^9/_{10}$ aus citronensaurem Kalk besteht. 1 Liter Kuhmilch enthält 0,9—1,0 g Citronensäure. Ueber ein quantitatives Bestimmungsverfahren siehe bei „Untersuchung der Milch“. Isolirung.

Die Citronensäure krystallisirt mit 1 Mol. Krystallwasser in rhombischen Prismen, die bei 100° schmelzen. Schmelzpunkt der wasserfreien Säure 153—154°. Die krystallisirte Säure löst sich sehr reichlich in kaltem Wasser, sie löst sich auch leicht in Alkohol, weniger reichlich in Aether. Die Alkalisalze, auch das saure Kalisalz, sind in Wasser leicht löslich. Das neutrale Kalksalz ist in Kali- oder Natronlauge unlöslich, aber löslich in Chlorammoniumlösung; diese Lösung, zum Kochen erhitzt, scheidet das Calciumcitrat aus, welches jetzt in Chlorammoniumlösung sich nicht wieder löst. Eine wässerige Citronensäurelösung mit Kalkwasser übersättigt, giebt in der Kälte keinen Niederschlag, beim Kochen fällt das Kalksalz aus (charakteristisches Verhalten). Erwärmt man das amorphe in Wasser schwer lösliche Barytsalz mit Bariumacetat oder Essigsäure längere Zeit, so löst es sich und beim Erkalten und Stehen scheidet sich $(C_6H_5O_7)_2Ba_3 + 3^1/_2 H_2O$ in charakteristischen frei liegenden oder zu Bündeln vereinigten Büscheln ab. Eigenschaften.

Dem Nachweis muss die Isolirung vorangehen. Zur Erkennung dient ausser den angegebenen Eigenschaften folgende Reaction[1]): 1 Th. Citronensäure wird mit 6 Th. Ammoniak 6 Stunden lang auf 110—120° im zugeschmolzenen Glasrohr erhitzt, die Lösung dann in eine flache Schale ausgegossen und an der Luft im Licht stehen gelassen; sie färbt sich nach einigen Stunden blau, später grün. Die Reaction gelingt noch mit 10 mg Citronensäure. Nachweis.

Aceton und Acetylessigsäure.

79. **Aceton C_3H_6O.** Zuerst im Destillat diabetischer Harne nachgewiesen und in diesen oft in reichlicher Menge vorhanden, auch in der Exspirationsluft und im Blut Diabetischer gefunden, kommt es nach v. Jaksch in kleinen Mengen auch im Destillat normaler Harne vor. Gesteigerter Eiweissgehalt (Fieber, Inanition) bewirkt eine Vermehrung der Acetonausscheidung. Es entsteht in kleiner Menge beim Erhitzen von Vorkommen.



1) Sabanin u. Laskowsky, Zeitschr. f. analyt. Chem. 17. 74. (1878.)

Zucker mit Alkalien, bei der Oxydation von Gelatine[1]) und Eieralbumin[2]) mit Wasserstoffsuperoxyd und Eisensalz.

Darstellung. Es wird erhalten aus Isopropylalkohol und β-Oxybuttersäure durch Oxydation, aus Acetylessigäther durch Einwirkung starker Säuren oder Alkalien neben Kohlensäure und Alkohol, aus Acetylessigsäure durch einfaches Erhitzen und bildet sich reichlich bei der trockenen Destillation von essigsaurem Baryt, Holz, Zucker und Kalk.

Eigenschaften. Es ist eine mit Wasser, Alkohol oder Aether sich mischende Flüssigkeit von angenehmen, eigenthümlichem Geruch, siedet bei 56,3° und hat das spec. Gewicht 0,814 bei 0°. Mit sauren, schwefligsauren Alkalien vereinigt es sich zu krystallisirenden Verbindungen. Erhitzt man eine sehr verdünnte Acetonlösung mit dem gleichen Volumen einer Mercurisulfatlösung, die aus 5 g Quecksilberoxyd, 20 ccm conc. Schwefelsäure und 100 g Wasser dargestellt ist, 10 Min. in verschlossener Flasche im siedenden Wasserbad, so erhält man einen weissen krystallinischen Niederschlag, der aus Aceton, Quecksilber und Schwefelsäure besteht (Denigès[3]). Kocht man eine Acetonlösung mit p-Nitrophenylhydrazin in essigsaurer Lösung, so scheiden sich, beim Abkühlen zunehmend, hellgelbe Nadeln von p-Nitrophenylhydrazon-Aceton ab, die aus heissem Alkohol umkrystallisirt bei 148 bis 148,5° schmelzen und sich mit alkohol. Kalilauge roth bis violett färben (Bamberger und Sternitzki[4]). Mit Jod und Kalilauge behandelt giebt Aceton Jodoform, durch Natriumamalgam und Wasser wird es in Isopropylalkohol umgewandelt.

Isolirung und Nachweis. Zum Nachweis von Aceton im Harn destillirt man grosse Mengen, bis etwa der 10. Theil übergegangen ist, säuert das Destillat mit Salzsäure an, destillirt noch mehrmals und fängt stets nur den zuerst übergehenden Theil in stark gekühlter Vorlage auf. Mit dem Destillat stellt man folgende Reactionen an:

1. Auf Zusatz von etwas Jodjodkaliumlösung und wenig Natronlauge entsteht eine gelblich weisse Trübung und allmählich Abscheidung von sechsseitigen mikroskopischen Plättchen von Jodoform.

2. Frisch aufgelöstes Nitroprussidnatrium und Natronlauge geben Rothfärbung, die bald in Gelb übergeht. Fügt man jetzt Essigsäure hinzu, so entsteht Purpur- bis Carminroth-Farbe; ähnlich aber langsamer mit Ammoniak statt Natronlauge.

3. Eine dritte Probe wird mit Lösung von Sublimat oder Mercurinitrat gemischt, dann mit Kalilauge und Alkohol bis zur stark alkalischen

---

[1]) Blumenthal und Neuberg, Deutsche med. Wochenschr. 1901. S. 6.

[2]) Orgler, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. **1.** 579. (1902.)

[3]) Compt. rend. **126.** 1868 (1898) und **127.** 963. (1898.)
C. Oppenheimer, Ber. d. d. chem. Ges. **32.** 986. (1899.) Oppenheimer empfiehlt dieses Reagens auch zum Nachweis des Aceton im Harn. Das Nähere Berl. klin. Wochenschr. 1899. No. 38.

[4]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **26.** 1306. (1893.)

Reaction versetzt, stark umgeschüttelt und filtrirt. Schichtet man über das Filtrat etwas Schwefelammonium ohne Umschütteln, so zeigt sich an der Grenze der Flüssigkeiten Schwarzfärbung, wenn Aceton zugegen ist, da dasselbe unter diesen Verhältnissen etwas Quecksilber löst. Bei geringem Acetongehalt tritt die Schwarzfärbung unter Umständen nur ein, wenn vor dem Zusatz des Schwefelammoniums mit Salzsäure schwach angesäuert ist.

Die erste Reaction giebt auch Alkohol, alle 3 Reactionen geben auch Aldehyd. Führt man die Destillation in der oben angegebenen Weise aus, so ist ein Vorhandensein von Aldehyd im Destillat ausgeschlossen.

4. Man setzt zu etwa 10 ccm der Flüssigkeit einen Tropfen 10proc. Lösung von salzsaurem Hydroxylamin und einen Tropfen 5proc. Natronlauge, dann einen grösseren Tropfen Pyridin. Ueberschichtet man nun mit etwa 1 ccm Aether, fügt unter Umschütteln Bromwasser bis zur Gelbfärbung des Aethers hinzu und dann Wasserstoffhyperoxyd, so geht die Gelbfärbung in Blaufärbung über. Empfindlichkeitsgrenze 1 : 5000[1]).

Da aus Acetylessigsäure beim Kochen Aceton entsteht, so kann der Nachweis von Aceton im Harn in der geschilderten Weise nur bei Abwesenheit von Acetylessigsäure geführt werden. Um bei Anwesenheit dieser Säure (siehe § 80) auf Aceton zu prüfen, schüttelt man den alkalisch gemachten Harn mit reinem Aether, die ätherische Lösung mit Wasser und stellt nun mit der wässerigen Lösung die Reactionen an.

80. **Acetylessigsäure $C_4H_6O_3$.** Acetylessigsäure[2]) findet sich nicht selten in schweren Fällen von Diabetes und bei anderen pathologischen Zuständen im Harn, normaler Weise nicht. Im Allgemeinen tritt sie unter denselben Bedingungen auf wie das Aceton, aber wie es scheint seltener. Vorkommen.

CH_3
|
CO
|
CH_2
|
COOH

Die Acetylessigsäure, erhalten durch vierundzwanzigstündiges Stehenlassen ihres Aethylesters mit etwas mehr als der berechneten Menge 2,5 proc. Kalilauge, Ansäuern mit Schwefelsäure, Ausschütteln mit Aether und vorsichtiges Verdunsten des Aethers, stellt eine stark sauer reagirende syrupöse Flüssigkeit dar, die mit Wasser sich gut mischt und mit Barium und Kupfer amorphe Salze bildet. Die Salze zerfallen ebenso wie die freie Säure beim Erhitzen ihrer wässerigen Lösungen in Aceton und Carbonate bezw. Kohlensäure. Mit Eisenchlorid geben die freie Säure, ihre Salze und Ester weinrothe Färbung. Bei der Behandlung von Acetylessigester mit Natriumamalgam bei niedriger Temperatur bildet sich i-β-Oxybuttersäure, welche bei der Oxydation mit Chromsäure in Aceton und Kohlensäure zerfällt. Darstellung und Eigenschaften.

Zum Nachweis der Acetylessigsäure im Harn dienen folgende Reactionen: Nachweis.

---

[1]) Stock, Dissert. Berlin 1899. Vergl. auch Blumenthal u. Neuberg a. a. O.
[2]) Gerhardt, Wien. med. Presse. 1865. S. 673.
Tollens und Deichmüller, Ann. Chem. Pharm. **209**. 22. u. 30. (1881).
v. Jaksch, Zeitschr. für physiol. Chem. **7**. 487. (1882—1883.)

1. Reaction von Gerhardt. Weinrothe Färbung auf tropfenweisen Zusatz von Eisenchlorid. Deutlicher tritt die Färbung hervor, wenn man den auf Zusatz weniger Tropfen Eisenchlorid entstehenden Niederschlag von Eisenphosphat zunächst abfiltrirt und das Filtrat für die Reaction benutzt. Die Färbung verschwindet allmählich. 0,4—0,5 pM. lassen sich im Harn noch nachweisen.

Eine ähnliche Färbung mit Eisenchlorid geben Phenol, Salicylsäure, Stoffwechselproducte des Antipyrin, Thallin, Kairin (vergl. v. Jacksch, Ueber Acetonurie und Diaceturie, Berlin 1885). Vor Verwechselung mit diesen Körpern schützt die weinrothe Färbung sowie der Umstand, dass bei Anwesenheit von Acetylessigsäure die Färbung sofort auftritt und allmählich verblasst.

2. Sehr viel empfindlicher und nicht gestört durch Anwesenheit von Salicylsäure und anderen Medicamenten ist die Reaction von Arnold[1]) in der Modification von Lipliawsky.[2])

Erforderliche Reagentien: 1. eine frischbereitete 1proc. Lösung von p-Amidoacetophenon, der zur leichteren Lösung auf 100 ccm 2 ccm conc. Salzsäure zugefügt sind, 2. eine 1proc. Kaliumnitritlösung.

6 ccm der 1. Lösung und 3 ccm der 2. Lösung werden mit dem gleichen Volumen Harn versetzt, ein Tropfen conc. Ammoniak wird hinzugefügt und stark geschüttelt, wobei eine ziegelrothe Färbung entsteht. Von dieser Mischung nimmt man — je nach dem Gehalt des Harn an Acetylessigsäure — 10 Tropfen bis 2 ccm, setzt etwa 15—20 ccm Salzsäure (spec. Gew. 1,19), 3 ccm Chloroform und 2—4 Tropfen Eisenchloridlösung hinzu und lässt nun die Mischung $^1/_2$—1 Minute oder noch länger langsam durcheinanderlaufen (nicht schütteln). Bei Anwesenheit von Acetylessigsäure färbt sich das Chloroform violett bis marineblau (die Farbe ist lichtbeständig und dauernd haltbar), bei Abwesenheit nur gelblich oder schwach röthlich. 0,04 pM. Acetylessigsäure im Harn lassen sich noch nachweisen.

Schwefelhaltige Körper.

Vorkommen. $CH_3(SH)$

81. **Methylmercaptan CH_4S** fanden Nencki und Sieber[3]) regelmässig unter den Gasen, welche sich bei der Zersetzung von Eiweiss und Leim durch die verschiedensten Bacterien bilden. L. Nencki[4]) konnte es in den menschlichen Excrementen nachweisen und M. Nencki[5]) im menschlichen Harn nach Spargelgenuss. Auch nach Genuss von Blumenkohl, Rothkohl tritt es im Harn auf (Rubner[6]). Es entsteht auch, wie Nencki

---

[1]) Wien. klin. Wochenschr. 1899. No. 20 und Ctbl. für inn. Med. 1900. No. 17.
[2]) Deutsche med. Wochenschr. 1901. S. 151.
Allard, Berl. klin. Wochenschr. 1901. S. 985.
[3]) Monatshefte für Chem. **10**. 526. (1889.)
[4]) Ebendas. **10**. 862. (1889.)
[5]) Arch. f. exp. Pathol. und Pharm. **28**. 206. (1891.)
[6]) Arch. f. Hygiene. **19**. 136. (1893.)

und Schoubenko[1]) feststellten, wenn man Eiweiss und Leim (20 g) mit Aetzkali (200 g) 3/4 bis 1 Stunde auf 250—280° erhitzt.

Um es aus der Kalischmelze zu gewinnen, löst man dieselbe in Wasser, säuert mit Oxalsäure an (in Betreff der genauen Beschreibung siehe die Originalarbeit), erwärmt und fängt die übergehenden Gase in 3proc. Quecksilbercyanidlösung auf. Den entstehenden Niederschlag von Schwefelquecksilber und Methylmercaptanquecksilber filtrirt man ab, wäscht ihn und löst in Salzsäure. Das freigewordene Methylmercaptan destillirt man in eine 3proc. Lösung von essigsaurem Blei, es scheidet sich Methylmercaptanblei in Form eines gelben Niederschlags von microskopischen Tafeln und Prismen ab. In derselben Weise lässt es sich aus dem Harn isoliren. Isolirung.

Das Methylmercaptan stellt eine leichte, auf Wasser schwimmende Flüssigkeit dar, welche bei 5,8° siedet und einen charakteristischen unangenehmen Geruch (nach faulem Kohl) besitzt. Es bildet mit Blei, Quecksilber, Platin, Gold in Wasser unlösliche Verbindungen und färbt Isatinschwefelsäure grün. Mit dieser Reaction lassen sich ausserordentlich kleine Mengen erkennen, noch empfindlicher ist der Nachweis mit Hülfe von Platin- oder Goldchlorid (Rubner). Eigenschaften u. Nachweis.

82. **Aethylsulfid** $C_4H_{10}S$ ist nach Abel[2]) die flüchtige, stark nach Knoblauch riechende Verbindung, welche sich aus Hundeharn beim Versetzen mit Kalkmilch oder Alkali aus einer noch unbekannten Muttersubstanz entwickelt. Nach Drechsel[3]) entsteht eine flüchtige, dem Aethylsulfid sehr ähnlich riechende Substanz bei der Zersetzung der Eiweisskörper durch Salzsäure. Vorkommen.

C_2H_5 | S | C_2H_5

Um das Aethylsulfid aus Hundeharn zu erhalten (die Reindarstellung ist noch nicht gelungen), macht man ihn alkalisch und leitet einen langsamen Luftstrom hindurch. Derselbe passirt nach einander mit Salzsäure, mit Natronlauge, mit Kalistückchen und mit granulirtem Chlorcalcium gefüllte Waschflaschen, bezw. U-Röhren und tritt schliesslich durch concentrirte Schwefelsäure, welche das Aethylsulfid zurückhält. Isolirung.

Es ist eine farblose, bei 92° siedende Flüssigkeit, löst sich in Alkohol und Aether, nur wenig in Wasser, wohl aber in concentrirter Schwefelsäure unter Verschwinden des Geruchs und beim Verdünnen mit Wasser sich wieder abscheidend. Sublimat ruft in seinen Lösungen einen Niederschlag hervor, der abfiltrirt und mit Wasser gewaschen aus heissem Alkohol in langen, glänzenden Prismen krystallisirt $(C_2H_5)_2SHgCl_2$, Sm.-P. 119°. Mit Bromessigsäure bildet es ein schön krystallisirendes Bromid der Diäthylsulfinessigsäure $Br(C_2H_5)_2S . CH_2COOH$. Auf Zusatz von Jodjodkalium entsteht in wässriger oder schwefelsaurer Lösung ein schwarzbrauner Nie- Eigenschaften.

---

[1]) Archives des scienc. biologiq. publiées par l'institut impérial de médic. expériment. à St. Petersbourg. **1.** 315. (1892.)

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **20.** 253. (1895.)

[3]) Centralbl. f. Physiol. **10.** 529. (1897.)

derschlag $(C_2H_5)_2 SJ_2$, der sich nur sehr allmählich in schwarzbraunen Oeltröpfchen abscheidet. Sehr empfindliche Reaction, da noch in sehr verdünnten Lösungen wolkenartige Trübungen entstehen. Sehr vorsichtiger Zusatz von salpetrigsaurem Salz zu einer Lösung von Aethylsulfid in Schwefelsäure ruft eine Grünfärbung hervor, welche aber beim Stehen und bei überschüssigem Zusatz des Reagens verschwindet (weniger empfindliche Reaction).

Nachweis. Zum Nachweis dienen die beiden eben genannten Reactionen, doch ist zu bemerken, dass auch Methylamin, welches sich aus mit Kalkmilch versetztem Hundeharn entwickeln kann, mit Jod eine ähnliche Reaction giebt[1]).

Alkohole.

Vorkommen. CH_3 | $CH_2(OH)$

83. **Aethylalkohol C_2H_6O.** Spuren von Alkohol finden sich in den menschlichen Organen, wie Gehirn, Muskeln, Leber, nicht allein nach Alkoholgenuss, sondern sie scheinen auch ohne letzteren stets vorhanden zu sein. Rajewski[2]) fand in ganz frischem Muskelfleisch und Gehirn von Kaninchen, Pferd und Rind, Leber vom Hunde bei Destillation mit Wasser im Destillat geringe mit Kalilauge und Jod durch Jodoformbildung nachweisbare Mengen und stellte aus frischem Pferdefleisch Alkohol dar, den er mit Platinmohr in Aldehyd und Essigsäure überführte. Béchamp fand gleichfalls Alkohol in der Leber. Im Harn tritt er nur nach sehr reichlichem Genuss von Alkohol auf, im diabetischen kann er beim Stehen durch Vergähren des Zuckers sich bilden.

Eigenschaften. Empfindliche Reactionen auf Alkohol:

1. Jodoformprobe siehe § 79, 1. Es ist zweckmässig, ein wenig zu erwärmen. Die Abscheidung erfolgt viel langsamer als bei Aceton. Die Reaction ist nicht beweisend für Aethylalkohol, da eine Reihe anderer Verbindungen sie auch geben.

2. Beim Erhitzen mit einer sehr verdünnten Lösung von Kaliumbichromat und Schwefelsäure tritt Grünfärbung und Aldehydgeruch auf. Viele andere Stoffe geben dieselbe Reaction.

3. Beim Erhitzen mit conc. Schwefelsäure und etwas Natriumacetat giebt sich der charakteristische Geruch nach Essigäther zu erkennen.

4. Beim Schütteln mit einigen Tropfen Benzoylchlorid und einigen Cubikcentimetern 10proc. Natronlauge entsteht der eigenthümliche Geruch nach Benzoësäureäthylester.

Isolirung. Zur Isolirung sehr geringer Mengen Alkohol aus thierischen Organen destillirt man das schnell zerkleinerte Organ mit Wasser, indem man nur die zuerst übergehende Portion auffängt, diese nochmals recti-

---

[1]) Huppert, Analyse des Harns. 10. Aufl. 1898. S. 54.

[2]) Arch. f. d. ges. Physiol. **11.** 122. (1875.)

ficirt, das zweite Destillat mit Kaliumcarbonat fast sättigt, abermals destillirt und nun vollständig mit dem Carbonat sättigt. Sind irgend wesentliche Quantitäten Alkohol vorhanden, so werden sie in Tropfen sich ausscheiden. Man destillirt dann, mögen ölige Tropfen aufgetreten sein oder nicht, wieder eine kleine Portion ab und stellt mit dem Destillat die oben angegebenen Reactionen an. Sind durch Kaliumcarbonat ölige Tropfen abgeschieden und diese durch Destillation abgetrennt, so kann man mit ihnen in einem Schälchen bei gutem Luftzutritt Platinmohr am Besten mit Asbest gemengt leicht benetzen und erhält alsbald den Geruch nach Aldehyd, wenn Alkohol zugegen ist. Extrahirt man dann mit etwas Wasser, fügt zur Lösung einen Tropfen Silbernitrat und erwärmt, so scheidet sich metallisches Silber aus. Lässt man die Tropfen des Destillats auf dem Platinmohr einige Zeit stehen, so werden sie stark sauer, filtrirt man dann, fügt ein wenig Silberoxyd hinzu, erwärmt und filtrirt, so enthält die Lösung essigsaures Silber. Wenn diese Reactionen gelingen, kann über die Anwesenheit von Alkohol im ursprünglichen Destillate kein Zweifel sein, während von den oben angeführten Proben besonders die beiden letzten als beweisend angesehen werden können.

CH_3
$|$
$(CH_2)_{14}$
$|$
CH_2OH

84. **Cetylalkohol $C_{16}H_{34}O$.** Im Wallrath, ebenso im Secret der Bürzeldrüse von Enten und Gänsen[1]), in Dermoidcysten[2]) findet sich Cetylalkohol in Verbindung mit fetten Säuren, hauptsächlich mit Palmitinsäure. Palmitinsäure-Cetylester, der Hauptbestandtheil des Wallraths, schmilzt bei 53,5 °. Man stellt den Cetylalkohol aus dem Rückstande des Aetherextractes dieser Substanzen durch Verseifung mit alkoholischer Kalilauge, Fällen des Alkohols mit Wasser und öfteres Umkrystalliren aus Aether oder Eisessig dar.

Der reine Cetylalkohol krystallisirt in dünnen, blätterigen Tafeln, die bei 50 ° schmelzen zu einer Flüssigkeit von 0,8105 spec. Gew. bei 60 °, welche bei 344 ° unzersetzt destillirt. Er ist unlöslich in Wasser, löslich in Alkohol, Aether, Eisessig. Beim andauernden Erhitzen mit Säuren verbindet er sich mit denselben zu Aetherarten und geht mit Kalihydrat auf 220 bis 275 ° erhitzt in Palmitinsäure über.

85. **Psyllaalkohol $C_{33}H_{68}O$** wurde von Sundwik[3]) im Secret der Blattlaus Psylla alni aufgefunden, in dem er sich als Ester in Verbindung mit Psyllasäure $C_{32}H_{65}COOH$ findet. Der Ester ist unlöslich in kaltem oder heissem Aether, löslich in heissem Chloroform, aus dem er sich beim Erkalten in feinen mikroskopischen Nadeln abscheidet. Schmelzp. 96 °. Der Alkohol ist unlöslich oder schwer löslich in Aether, leicht löslich in Benzol und Essigäther, er krystallisirt (mit Wasser) in schrägen Tafeln. Beide haben die Fähigkeit reichliche Mengen Wasser zu binden, das über 100 ° entweicht. $C_{33}H_{67}OH$

---

[1]) de Jonge, Zeitschr. f. physiol. Chem. **3.** 225. (1879.)
[2]) Sotnitschewsky, Ebendas. **4.** 345. (1880.)
v. Zeynek, Ebendas. **23.** 40. (1897.)
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **17.** 425. (1893.) **25.** 116. (1898.) **32.** 355. (1901.)

Vorkommen. 86. **Glycerin** $C_3H_8O_3$. Das Glycerin, welches im freien Zustande wohl nur in Spuren im Inhalt des Dünndarms, entstanden durch Einwirkung des pancreatischen Saftes und der Bacterien auf Fette, vorkommen mag, ist, an Oelsäure und mehrere Fettsäuren der Reihe $C_nH_{2n}O_2$ gebunden, der allgemeinste Bestandtheil thierischer und pflanzlicher Fette. Es ist im Lecithin enthalten und nach Bang auch in der Guanylsäure und bildet sich in geringer Menge bei der alkoholischen Gährung des Zuckers.

$CH_2(OH)$ | $CH(OH)$ | $CH_2(OH)$

Darstellung. Synthetisch lässt es sich auf verschiedene Weise darstellen. Um es aus Fetten zu gewinnen, verseift man diese durch Kochen mit Bleioxyd und Wasser, filtrirt von fettsaurem Blei ab, befreit das Filtrat durch Schwefelwasserstoff von gelöstem Bleioxyd und dampft die von Schwefelblei abfiltrirte Flüssigkeit ein.

Eigenschaften. Das Glycerin stellt in reinem Zustande eine farb- und geruchlose, süss schmeckende, sehr hygroscopische, in Wasser oder Alkohol in jedem Verhältniss lösliche, in Aether unlösliche, syrupöse Flüssigkeit dar, welche bei 0^0 allmählich krystallisirt. Es siedet im luftverdünnten Raum bei 50 mm Druck bei 210^0 und verflüchtigt sich in geringer Menge schon beim Kochen seiner wässerigen Lösnng mit den Wasserdämpfen. Seine Lösungen reagiren neutral. Als dreiwerthiger Alkohol kann es sich mit 1, 2 oder 3 Molekülen einbasischer Säuren zu Aethern verbinden. Diese Verbindungen nennt man Glyceride. Zu ihnen gehören die Glycerinphosphorsäure und die Fette, welche durch Erhitzen von trockenem Glycerin mit wasserfreier Phosphorsäure bezw. trockenen Fettsäuren erhalten werden können. Beim Schütteln von Glycerin mit Benzoylchlorid und Natronlauge bilden sich in Wasser unlösliche Benzoësäureester[1]). Es löst Kalk, Baryt, Kupferoxyd, Bleioxyd und andere Metalloxyde unter Bildung von Alkoholaten auf, auch Fettsäuren, wie Palmitinsäure, Stearinsäure, Oelsäure sind etwas löslich in ihm. Mit Kupfersulfat und Alkali giebt es eine dunkelblaue Flüssigkeit, die beim Kochen nicht reducirt wird.

Zersetzungen. Erhitzt man Glycerin mit wasserfreier Phosphorsäure oder saurem schwefelsauren Kali, so bildet sich durch Zerlegung des Glycerins Wasser und Acroleïn C_3H_4O, eine äusserst stechend riechende, leicht flüchtige und sich an der Luft schnell oxydirende Flüssigkeit, welche auch Silber in ammoniakalischer Lösung schnell reducirt. Ein in die Dämpfe gehaltener Papierstreifen, der mit einer natronlauge- und ammoniakhaltigen Silberlösung getränkt ist, wird sofort schwarz. Beim Schmelzen mit Alkalien bildet das Glycerin zunächst Wasserstoff und Milchsäure, durch weitere Einwirkung auf die Milchsäure entstehen Buttersäure, Essigsäure, Ameisensäure u. s. w. Auch durch Bacterien wird es unter Bildung von Alkoholen und Säuren zersetzt.

CH_2 ‖ CH | CHO

Nachweis. Zum Nachweis des Glycerins dient vor Allem das Auftreten von Acroleïn bei seiner Zersetzung und die Grünfärbung, welche sich zeigt,

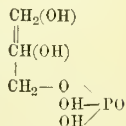
---

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie. II. 472. (1887.)

wenn man etwas Glycerin mit Borax am Platindraht in die Flamme bringt[1]), ferner sind die Mischbarkeit mit Wasser und Alkohol, der süsse Geschmack, die Fähigkeit, Kupferoxyd in alkalischer Lösung mit schön blauer Farbe zu lösen und die Unfähigkeit, es beim Erwärmen zu reduciren, für die Erkennung zu verwerthen.

---

87. **Glycerinphosphorsäure $C_3H_9PO_6$.** Die Glycerinphosphorsäure findet sich in sehr geringer Menge im normalen Harne, ferner im Blut, leukämischen Harn, in Transsudaten, Muskeln, Nerven, im Gehirn, Eidotter, Eiter u. s. w. Man hat sie wohl überall als Zersetzungsprodukt des Lecithins aufzufassen. Vorkommen.



Sie ist eine zweibasische Säure, welche synthetisch durch Einwirkung wasserfreier Phosphorsäure auf Glycerin gebildet werden kann.

Sie stellt eine syrupöse Flüssigkeit dar. Ihre Baryt- und Kalksalze sind unlöslich in absolutem Alkohol, leicht löslich in kaltem Wasser. Das Kalksalz wird in perlglänzenden Blättchen erhalten, wenn die kalt concentrirte Lösung zum Sieden erhitzt wird, auch das Zinksalz krystallisirt gut, dem milchsauren Zink sehr ähnlich. Die Lösung der glycerinphosphorsauren Salze wird durch essigsaures Bleioxyd gefällt. Eigenschaften.

Beim Erwärmen zerlegt sich die freie Säure allmählich in ihre Componenten.

Zum Nachweis der Glycerinphosphorsäure in Flüssigkeiten dampft man die von Eiweissstoffen befreite, mit Barytwasser alkalisch gemachte, durch Kohlensäure von überschüssigem Baryt befreite und nach Aufkochen abfiltrirte Flüssigkeit auf ein kleines Volumen ein, lässt einige Zeit stehen, um Kreatin und dergleichen sich ausscheiden zu lassen, dampft im Vacuum über Schwefelsäure möglichst ein, extrahirt den Rückstand mit absolutem Alkohol, löst das Zurückbleibende in wenig Wasser, filtrirt und prüft nach Verdunsten der Flüssigkeit zur Trockne den Rückstand nach § 56 auf Phosphor. Statt dessen kann man auch diese letztere Flüssigkeit mit Salzsäure ansäuern, einige Zeit im Kochen erhalten, zur Trockne abdampfen, den Rückstand mit Wasser ausziehen, filtriren und das Filtrat mit ammoniakalischer Magnesialösung oder mit molybdänsaurem Ammoniak auf Phosphorsäure prüfen (§ 50). Nachweis.

Fette.

88. Fette sind in allen Geweben und Organen enthalten, in wechselnden, oft nur ganz geringen Mengen, reichlich im Knochenmark, im subcutanen Bindegewebe, in der Bauchhöhle, zwischen den Muskeln und an vielen anderen Orten (Fettgewebe). Pathologischer Weise kann sich das Fett in jedem Organ anhäufen, es handelt sich in diesen Fällen um dasselbe Fett, Vorkommen.

---

[1]) Senier u. Lowe, Journ. of chem. soc. 1878. p. 438.

wie man es im normalen Zustande z. B. im Panniculus adiposus u. s. w. findet. Auch fast alle Flüssigkeiten enthalten Fett in geringer Menge gelöst. Im Harn findet es sich nur bei Chylurie und in sehr seltenen Fällen in Concrementen, die im Wesentlichen aus Fettsäuren und Fett bestehen. Fein vertheilt ist es reichlich in der Milch und im Chylus bei Fettfütterung vorhanden.

Die Fette sind Glycerinfettsäureester, und zwar Triglyceride. Das thierische Fett ist ein Gemenge von Tripalmitin, Tristearin und Trioleïn in wechselnden Verhältnissen, im menschlichen Fett überwiegt das Trioleïn. Daneben finden sich in kleiner Menge Trilaurin, Trimyristin, Triarachin und im Milchfett auch die Glyceride der Buttersäure, Capronsäure, Caprylsäure, Caprinsäure.

Darstellung. Synthetisch können die Fette durch Erhitzen von trockenem Glycerin mit den betreffenden trockenen Fettsäuren im geschlossenen Rohr auf 200° oder besser am Rückflusskühler erhalten werden.

Aus fettreichem, wasserarmem Gewebe (Fettgewebe) lässt sich das Fett nach möglichster mechanischer Zerkleinerung durch Kochen mit Alkohol, Verdunsten des alkoholischen Filtrats und Aufnehmen des Rückstandes mit Aether isoliren. Fettarme Gewebe (Muskeln, drüsige Organe) verrührt man nach guter Zerkleinerung mit Alkohol, bis die Masse krümelig wird, trocknet dann bei möglichst grosser Oberfläche und unter wiederholtem Umrühren auf dem Wasserbade bei etwa 70°, pulverisirt und extrahirt im Soxhlet'schen Apparat. Flüssigkeiten, welche Fett gelöst enthalten, werden ebenfalls nach Alkoholzusatz eingedampft und in gleicher Weise behandelt. In Flüssigkeiten suspendirte Fette kann man durch Schütteln mit Aether aufnehmen, aus Emulsionen, z. B. Milch, erhält man sie auf gleiche Weise, nachdem man etwas Natronlauge zugefügt hat. Der nach Verdunsten des Aethers hinterbleibende Rückstand kann ausser dem Fett noch Fettsäuren, complicirt zusammengesetzte, Glycerinfettsäureester enthaltende Verbindungen, z. B. Lecithin, Cholesterin und seine Ester enthalten, auch Farbstoffe können sich darin befinden. Um Fettsäuren, deren Vorhandensein sich dadurch zu erkennen giebt, dass die alkoholisch-ätherische Lösung einer Probe des Rückstandes auf Zusatz von Alcannatinctur sich blauviolett färbt, zu entfernen, verreibt man den Aetherrückstand mit mässig verdünnter Sodalösung, dampft auf dem Wasserbade ein, nimmt mit Wasser auf, fügt Aether hinzu und schüttelt. Die Säuren bleiben nun als Natronsalze in der wässerigen Lösung, während Fett, Lecithin und Cholesterin in den Aether übergehen. Eine Abtrennung von Lecithin ist nicht möglich. Zum Nachweis prüft man eine Probe des Aetherrückstandes auf Phosphor nach § 56. Eine Abtrennung des Cholesterins ist nur möglich nach vorausgegangener Verseifung (siehe „Cholesterin"). Ueber die Isolirung der einzelnen Fette aus dem Fettgemenge siehe folgenden Paragraphen.

Manche Fette sind flüssig (reicher Gehalt an Oleïn), andere bei gewöhnlicher Temperatur krystallisirt; sie reagiren, wenn völlig rein, neutral, sind an sich farb-, geschmack- und geruchlos, lösen aber viel Farbstoff und erscheinen im Thierkörper wohl immer gefärbt. Sie durchtränken Papier und machen es durchscheinend (Fettflecke), beim Erhitzen verflüchtigen sie sich nicht unzersetzt. Sie sind unlöslich in Wasser, leichter als dieses, in flüssigem Zustand auf ihm schwimmend (Fettaugen), meist auch ziemlich unlöslich in kaltem, leicht löslich in kochendem Alkohol. Alle lösen sich leicht in Aether, Chloroform und flüchtigen Oelen; sie lösen sich auch gegenseitig auf, so stellen die gewöhnlichen Oele, wie Olivenöl, eine Lösung von Stearin und Palmitin in Oleïn dar. Etwas löslich sind Fette auch in Seifen-, Eiweiss- oder Leimlösungen und besonders in Flüssigkeiten, welche Gallensäuren enthalten. Schüttelt man flüssige Fette mit schleimigen oder Eiweisslösungen, so gehen sie in feine Zertheilung über, aus welcher sie sich nur langsam wieder zu einer Masse vereinigen (Emulsion). Eine haltbare Emulsion entsteht auch, wenn man gewöhnliches, nicht gereinigtes, flüssiges Fett (das in Folge von Zersetzungen stets kleine Mengen freier Fettsäuren enthält) mit schwacher Sodalösung zusammenbringt; vollkommen neutrales Fett thut dies nicht, da sich in diesem Falle keine Seifen, auf deren Anwesenheit die Emulsionirung beruht, bilden können. Eigenschaften.

Durch Kochen mit Wasser werden die Fette kaum angegriffen, dagegen durch Erhitzen mit Alkalien, besonders in alkoholischer Lösung schnell in Glycerin und Fettsäuren gespalten (Verseifung); dieselbe Zerlegung bewirkt conc. Schwefelsäure oder Wasserdampf in das auf 220° erhitzte Fett eingeleitet, ferner ein im Pancreas- und Magensaft enthaltenes Enzym, sowie eine Reihe von Mikroorganismen. Alkalien in der Kälte verseifen nicht, ebenso wenig kohlensaure Alkalien in der Wärme. Verseifung.

Die Verseifung bewirkt man am besten in der § 89 angegebenen Weise. Die „Seifenlösung“ wird zur Entfernung etwa vorhandenen Cholesterins mit Aether ausgeschüttelt, dann, ohne den letzten Rest des Aethers zu entfernen, mit verdünnter Schwefelsäure gut angesäuert und nun auf dem Wasserbade bis zum Verdunsten des Aethers erwärmt. Die ausgeschiedenen Fettsäuren werden durch Filtration entfernt und durch Lösen in Aether gereinigt. Das Filtrat wird mit Ammoniak neutralisirt, auf dem Wasserbade zu sehr kleinem Volumen eingedampft und mit Alkohol ausgezogen. Das filtrirte Alkoholextrakt enthält das Glycerin und Spuren von schwefelsauren Salzen, die man durch Zusammenreiben des Verdampfungsrückstandes mit Bleioxyd und etwas Wasser und Filtriren wegschaffen kann. Aus der Lösung entfernt man durch Schwefelwasserstoff das Blei, filtrirt und dampft zum Syrup ein. Den Syrup prüft man nach § 86 auf Glycerin.

Beim Stehen der Fette in Berührung mit atmosphärischer Luft werden sie allmählich zerlegt, sie werden ranzig, wie man sagt, indem sich flüchtige

Fettsäuren bilden. Erhitzt man Fette, zweckmässig nach Zusatz von gepulvertem Kaliumbisulfat, so gehen Fettsäuren und Acroleïn über, dessen Nase und Augen stark reizende Dämpfe sich schon in geringen Mengen leicht kenntlich machen (§ 86).

Nachweis. Zum **Nachweis** der Fette dient besonders die letzte Reaction. Ausser Fetten und hochmolecularen fetthaltigen Verbindungen wie Lecithin sind keine Stoffe bekannt, welche in Aether löslich sind und diese Reaction geben.

$CH_2-O-C_{18}H_{35}O$
$|$
$CH-O-C_{18}H_{35}O$
$|$
$CH_2-O-C_{18}H_{35}O$

Stearin (Tristearin) $C_{57}H_{110}O_6$. Das Stearin ist das festeste, am schwersten schmelzbare unter den bekannten Fetten. Es ist in heissem Alkohol oder Aether schwerer löslich als die übrigen Fette und wird beim Erkalten jener Lösungen zuerst ausgeschieden, gewöhnlich in rectangulären Tafeln, seltener in rhombischen Prismen. Der eigentliche Schmelzpunkt ist 71,5°. Es ist aus thierischen Fetten kaum rein zu erhalten. Das unreine Stearin ist bei 53°—66° schmelzbar.

$CH_2-O-C_{16}H_{31}O$
$|$
$CH-O-C_{16}H_{31}O$
$|$
$CH_2-O-C_{16}H_{31}O$

Palmitin (Tripalmitin) $C_{51}H_{98}O_6$. Das Palmitin ist wenig löslich in kaltem, leicht löslich in heissem Alkohol oder Aether. Beim Erkalten der heiss gesättigten Lösung scheiden sich feine Nadeln von Palmitin aus. Ist es mit Stearin gemischt, so scheiden sich aus den heissen Lösungen beim Erkalten Gemische (oder Verbindungen) von Palmitin und Stearin in Kugeln aus, welche aus radial um einen Punkt gestellten Blättchen oder Nadeln, die oft grashalmartig gewunden erscheinen, bestehen. Diese Gemenge hielt man früher für ein besonderes Fett, welches Margarin genannt wurde. Der Schmelzpunkt des reinen Palmitins ist zu 62°, von Anderen zu 66° angegeben. Geringe Beimengungen verändern ihn.

$CH_2-O-C_{18}H_{33}O$
$|$
$CH-O-C_{18}H_{33}O$
$|$
$CH_2-O-C_{18}H_{33}O$

Oleïn (Trioleïn) $C_{57}H_{104}O_6$. In reinem Zustande ein farbloses, flüssiges Oel bei gewöhnlicher Temperatur, erstarrt bei —6° krystallinisch. Es wird leicht ranzig und und färbt sich dabei gelb, ist ziemlich löslich in absolutem Alkohol, weniger in verdünntem, leicht löslich in Aether. Das Oleïn löst Stearin und Palmitin reichlich auf und stellt in dieser Mischung die Hauptmasse der natürlichen Fette dar. Bei der trockenen Destillation giebt es ausser den Producten, welche auch andere Fette liefern, noch Sebacinsäure. Im Vacuum destillirt reines Oleïn unzersetzt.

Butyrin, Capronin, Caprylin und die anderen derartigen Fette sind noch nicht hinreichend untersucht; man hat keine Methode, sie von den übrigen Fetten ohne Zerlegung zu trennen. Trilaurin Schmelzpunkt 45°. Trimyristin Schmelzpunkt 55°. Triarachin Schmelzpunkt 72°.

89. **Untersuchung eines Fettgemenges auf seine Bestandtheile.** So wenig man eine genügende Methode besitzt, Cholesterin von den unzersetzten Fetten vollkommen zu trennen, so wenig ist man auch im Stande, eine Trennung der einzelnen Fette von einander vorzunehmen, ohne dass man sie verseift.

Eine für manche Zwecke genügende Trennung, die aber nur bei

grösseren Mengen ausführbar ist, erreicht man, wenn man die Fette einige Zeit bei einer Temperatur erhält, bei der ein Theil des gelösten Stearins und Palmitins auskrystallisirt; diese Temperatur würde für Butter etwa 20°, für Leberthran, Knochenöl etwa 0° sein, und so für jedes Fett verschieden. Man filtrirt durch Papier das flüssige Oel ab, presst die ausgeschiedenen Krystallmassen aus und lässt nun das Oel bei einer niederen Temperatur stehen, bei welcher wieder ein Theil sich ausscheidet, filtrirt u. s. w. Spült man die ausgepresste Krystallmasse mit kaltem Alkohol ab, so erhält man von Oleïn ziemlich freie Gemische von Stearin und Palmitin, und löst man diese in viel heissem Alkohol und lässt allmählich erkalten, so scheidet sich zuerst Stearin, dann dies mit Palmitin gemischt, zuletzt nur Palmitin mit Spuren von Oleïn aus.

Einen sicheren Aufschluss über die Zusammensetzung eines Fettgemenges erhält man nur durch Verseifung und Untersuchung der abgespaltenen Fettsäuren. Die Verseifung geschicht entweder mit alkoholischer Kalilauge oder mit Natriumalkoholat. 1. Verseifung mit alkoholischer Kalilauge nach der von E. Salkowski[1]) gegebenen Vorschrift: Man löst 50 g Fett im Kolben unter Erwärmen in 50 ccm Alkohol von 90 Vol.-pCt., andererseits in einer Schale unter Erwärmen 15 g Aetzkali in 10 ccm Wasser, giesst die Lösung in einen Kolben und spült mit 50 ccm Alkohol von 90 Vol.-pCt. nach. Erhitzt man nun beide Lösungen zum beginnenden Sieden, vereinigt sie und schüttelt gut durch, so erfolgt die Verseifung so gut wie augenblicklich und zwar vollständig. Die alkoholische Lösung wird eingedampft. 2. Verseifung mit Natriumalkoholat nach Kossel, Obermüller und Krüger[2]): 5 g Fett werden in einem geräumigen Kolben mit 10—20 ccm absolutem Alkohol übergossen, auf dem Wasserbade erwärmt, bis das Fett geschmolzen, 10—15 ccm Alkoholatlösung*) zugefügt, auf stark siedendem Wasserbad der Alkohol verdunstet und der Rückstand noch kurze Zeit erhitzt. Verseifungsmethoden.

Der nach dem einen oder anderen Verfahren erhaltene Rückstand wird in Wasser gelöst und die Lösung („Seifenlösung") mit verdünnter Schwefelsäure stark angesäuert. Die leichter flüchtigen Säuren werden abdestillirt und nach § 71 untersucht. Der Rückstand im Kolben wird nach dem Erkalten mit Aether ausgeschüttelt; sodann wird weiter nach § 72 zur Trennung der höheren Fettsäuren verfahren.

90. Um eine Vorstellung über die Zusammensetzung eines Fettgemenges zu erhalten, kann auch die Bestimmung folgender „Zahlen" von Nutzen sein. Für jede dieser

---

*) Jedesmal frisch zu bereiten, indem man 5 g blankes metallisches Natrium in 100 ccm absol. Alkohol ohne Abkühlen auflöst und den verdunsteten Alkohol wieder ersetzt.

[1]) Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1893. S. 467.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chemie. **14.** 599. (1890.) **15.** 321. (1891.)

Untersuchungen*) nimmt man nicht zu wenig Substanz, in den meisten Fällen womöglich 1 g.

1. Die Säurezahl, d. h. die mg KOH, welche zur Neutralisation der in 1 g Fett enthaltenen freien Fettsäuren nöthig sind.

Man löst eine abgewogene Menge Fett in Aetheralkohol und titrirt unter Zusatz von Phenolphtaleïn mit $^n/_{10}$ Lauge.

2. Die Verseifungszahl (Köttstorfer'sche Zahl), d. h. die mg KOH, welche nöthig sind, um die in 1 g Fett enthaltenen und bei der Verseifung abgespaltenen Fettsäuren zu neutralisiren.

Man kocht eine abgewogene Menge Fett (1—2 g) mit 10 ccm einer $^n/_2$ Lauge und 50 ccm Alkohol in einem Kölbchen etwa $^1/_4$ Stunde auf dem Wasserbade und titrirt nach Zusatz von Phenolphtaleïn mit $^n/_2$ Säure zurück.

3. Die Esterzahl, d. h. die mg KOH, welche nöthig sind, um die bei der Verseifung von 1 g Fett abgespaltenen Fettsäuren zu neutralisiren.

Man erhält sie durch Subtraction der Säurezahl von der Verseifungszahl. Bei neutralen Fetten fällt sie mit der Verseifungszahl zusammen. Sie wird um so grösser sein, je mehr Ester niedriger Fettsäuren von kleinem Molekulargewicht in dem Fett enthalten sind.

4. Die Hehner'sche Zahl, d. h. die Menge in Wasser unlöslicher Fettsäuren, welche aus 100 g Fett nach der Verseifung erhalten werden.

Man verseift eine abgewogene Menge Fett, verdunstet den Alkohol und versetzt die wässerige Lösung des Rückstandes mit Salzsäure. Die ausgeschiedenen Fettsäuren werden wiederholt mit kochendem Wasser behandelt, getrocknet und gewogen.

5. Die Reichert-Meissl'sche Zahl, d.h. die Anzahl cc. $^n/_{10}$ Lauge, welche zur Neutralisation der aus 5 g Fett nach der Verseifung erhaltenen flüchtigen Fettsäuren erforderlich sind.

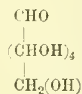
Man verseift eine abgewogene Menge Fett, säuert mit Schwefelsäure an, destillirt die flüchtigen Säuren ab und bestimmt ihre Menge im Destillat durch Titration mit $^n/_{10}$ Lauge.

6. Die Hübl'sche Zahl, d. h. die Jodmenge in g, welche von 100 g Fett aufgenommen wird. Sie giebt einen Anhaltspunkt zur Beurtheilung der Menge des im Fett enthaltenen Oleïn. Bei Gegenwart von Cholesterin wird allerdings auch von diesem Jod gebunden.

Man löst eine abgewogene Menge Fett (einige Decigramme) in Chloroform, fügt 20 ccm einer mit Sublimat versetzten alkoholischen Jodlösung**) (in 1000 ccm Alkohol 25 g Jod und 30 g Sublimat), welche auf $^n/_{10}$ Thiosulfatlösung eingestellt ist (man titrirt 10 ccm der Jodlösung nach Zusatz von 10—15 ccm 10proc. Jodkaliumlösung und 150 ccm Wasser mit der Thiosulfatlösung), hinzu, schüttelt um, lässt 2 Stunden stehen und titrirt nach Zusatz von Jodkaliumlösung und Wasser mit $^n/_{10}$ Thiosulfatlösung zurück.

Kohlehydrate von der Formel $C_6H_{12}O_6$.

Vorkommen.



91. **Traubenzucker (d-Glykose, Dextrose) $C_6H_{12}O_6$.** Unter allen Zuckerarten hat die Glykose bei Menschen und Thieren das ausgebreitetste Vorkommen. Abgesehen vom Darminhalte, in welchem sie je nach der Nahrung in sehr wechselnder Quantität vorhanden sein, zeitweise auch fehlen

---

*) Nähere Angaben über die Ausführung dieser Untersuchungen siehe z. B. bei Vortmann, Anleitung zur chem. Analyse u. s. w. Leipzig u. Wien 1891.

**) Die Lösung ist erst am Tage nach der Herstellung gebrauchsfähig.

kann, findet sie sich bei gesunden Thieren häufig in geringer Menge in dem Safte der Leber, regelmässig im Blute, in der Lymphe, in der Cerebrospinalflüssigkeit. Ebenso findet sich Traubenzucker stets in sehr geringer Menge im normalen menschlichen Harn[1]). Bei Diabetes wird er im Harn in vermehrter, oft sehr reichlicher Menge ausgeschieden. Aus Glykogen, Amylum, Dextrinen, Maltose, Milchzucker und Rohrzucker entsteht er durch hydrolytische Spaltung, aus den drei genannten Zuckern auch durch invertirende Enzyme.

Die Synthese der Glykose ist von E. Fischer[2]) ausgeführt. Um sie aus diabetischem Harn darzustellen, dampft man denselben bei mässiger Temperatur auf dem Wasserbad zum dünnen Syrup ein. Nach einigen Tagen oder Wochen ist Alles krystallisirt. Die körnige Masse wird nun mit wenig Alkohol zerrieben und gewaschen, um den Harnstoff zu entfernen, dann in siedendem Alkohol gelöst und heiss filtrirt. Die beim Stehen allmählich ausgeschiedenen Krystallkörner und Kugeln werden dann noch mehrmals aus heissem Alkohol, nach Soxhlet besser aus Methylalkohol umkrystallisirt. Darstellung.

Um aus zuckerarmen, wässrigen, eiweissfreien (siehe § 92) Flüssigkeiten Glykose zu isoliren, bedient man sich mit Vortheil ihrer Fällbarkeit durch essigsaures Bleioxyd und Ammoniak. Zertheilt man den Niederschlag in Alkohol und leitet Schwefelwasserstoff hindurch, filtrirt und dampft zum Syrupe ab, so erhält man den Zucker von einem grossen Theile anderer Stoffe getrennt. Löst man den Rückstand in absolutem Alkohol und fügt alkoholische Kalilösung hinzu, so lange ein Niederschlag entsteht, so erhält man Traubenzucker-Kali als in Alkohol unlöslichen Niederschlag. Man filtrirt, löst den Niederschlag in wenig Wasser, leitet schnell Kohlensäure bis zur Sättigung des Kalis hindurch, fällt die Lösung mit viel absolutem Alkohol, filtrirt, verdunstet bei möglichst niedriger Temperatur zum Syrupe und lässt einige Wochen zur Krystallisation stehen. Diese Darstellung des Traubenzuckers führt nur dann zu einem guten Resultate, wenn man den Zucker nur sehr kurze Zeit mit dem Kali in Verbindung lässt, also schnell Kohlensäure einleitet und mit Alkohol fällt; ganz entgeht der Zucker trotz aller Geschwindigkeit und auch bei niedriger Temperatur der Zersetzung durch das Kali nicht. Isolirung.

Ferner kann man nach Baumann Glykose aus wässerigen Lösungen als Benzoësäureester abscheiden, wenn man mit Benzoylchlorid und Natronlauge in den weiter unten angeführten Verhältnissen bis zum Verschwinden des Geruchs nach Benzoylchlorid schüttelt. Aus dem Estergemenge lässt

---

[1]) Baumann, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **19**. 3218. (1886.)
Wedenski, Zeitschr. f. physiol. Chem. **13**. 122. (1889.)
Baisch, Ebendas. **18**. 193. (1894), **19**. 339. (1894), **20**. 249. (1895).
Lemaire, Ebendas. **21**. 442. (1895—1896.)

[2]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **23**. 799. (1890.)

sich der Traubenzucker durch Verseifen mit Natriumalkoholat gewinnen[1]). Es werden aber bei diesem Verfahren auch die übrigen Kohlehydrate und viele andere Körper abgeschieden.

Die Isolirung kann auch mit Hülfe von Benzylphenylhydrazin versucht werden[2]). Fügt man dieses in der molecularen Menge Eisessig gelöste Reagens zu der heissen von Eiweiss und Stickstoffverbindungen[3]) möglichst befreiten Lösung hinzu, so entsteht langsam ein hellgelber krystallinischer Niederschlag von Glykosebenzylphenylhydrazon. Spaltet man diese Verbindung durch einstündiges Erhitzen im Wasserbad mit Formaldehyd, entfernt das gebildete Formaldehydhydrazon durch Ausschütteln mit Aether und das überschüssige Formaldehyd durch wiederholtes Abdampfen, so hinterbleibt schliesslich ein allmählich krystallisirender Syrup von Traubenzucker. Andere Zucker (Galactose, Milchzucker) werden durch dieses Reagens ebenfalls abgeschieden.

Eigenschaften. Der durch Umkrystallisiren aus Alkohol erhaltene wasserfreie Traubenzucker $C_6H_{12}O_6$ ist völlig farblos, bildet vierseitige Prismen mit schräger oder gerader Endfläche; die Krystallflächen sind meist uneben an grösseren Individuen; sie gruppiren sich beim Krystallisiren strahlig zu Kugeln und Knollen. Die Krystalle sind hart, luftbeständig bei gewöhnlicher Temperatur (Sm.-P. 146°). In Wasser lösen sie sich nicht sehr schnell. Die wässerige Lösung kann zur Trockne abgedampft werden, ohne dass sich ein Krystall bildet, während eine dünne, syrupöse Lösung binnen einiger Zeit ruhigen Stehens krystallinisch erstarrt und zwar krystallisirt aus concentrirten wässerigen Lösungen bei 30—35° ebenfalls wasserfreier Traubenzucker, aus wässerigen Lösungen in der Kälte dagegen wasserhaltiger $C_6H_{12}O_6 + H_2O$. Die Krystalle schnell auf 100° erhitzt schmelzen unter Bräunung, beim sehr langsamen Trocknen wird Wasser ohne Schmelzen ausgetrieben; es hinterbleibt eine weisse, undurchsichtige Masse von der Form der Krystalle, welche ohne Zerlegung auf 120° und darüber erhitzt werden kann. Der Traubenzucker ist schwer löslich in kaltem, leicht in heissem Alkohol, langsam aber reichlich in Methylalkohol, unlöslich in Aether. Aus wässerigen Lösungen wird er durch essigsaures Blei nur bei Gegenwart von Ammoniak gefällt. Aus den kochsalzhaltigen Lösungen des Traubenzuckers scheiden sich beim Stehen grosse sechsseitige Doppelpyramiden oder Rhomboëder aus, welche aus $2C_6H_{12}O_6 + NaCl + H_2O$ bestehen und 13,52 pCt. NaCl enthalten.

Verhalten zu Alkalien und alkalischen Erden. Wie alle Alkohole lässt sich auch die Glykose mit Basen und mit Säuren verbinden. Die Verbindung mit Basen vollzieht sich leicht und

---

[1]) Kueny, Zeitschr. f. physiol. Chem. **14**. 341. (1890.)

[2]) van Ekenstein u. Lobry de Bruyn, Rec. trav. chim. Pays-Bas. **15**. 225. (1896.)

Ruff u. Ollendorff, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **32**. 3234. (1899.)

[3]) Neuberg, Zeitsch. f. physiol. Chem. **29**. 274. (1900.)

schnell schon bei gewöhnlicher Temperatur, so z. B. mit Kali ($C_6H_{11}KO_6$), Natron, Kalk, Baryt ($C_6H_{12}O_6 . BaO$); eine wässerige Lösung von Traubenzucker löst reichlich Aetzkalk auf. Die Verbindungen sind in absolutem Alkohol unlöslich, eine Lösung von Glykose in Methylalkohol wird durch methylalkoholische Barytlösung quantitativ gefällt[1]). In wässeriger alkalischer oder erdalkalischer Lösung geht Glykose zum Theil in Laevulose und Mannose über[2]); weiterhin zersetzt sie sich schon bei gewöhnlicher Temperatur, unter Bildung von Milchsäure, viel schneller in der Wärme. Mit mässig starker Natronlauge auf 90° erwärmt zersetzt sich der Traubenzucker unter lebhafter Wärmeentwicklung und Braunfärbung, bei niedriger Temperatur langsamer, in Milchsäure, Brenzkatechin, Ameisensäure und andere Stoffe; bei reichlicher Sauerstoffzufuhr (Durchleiten von Luft) findet, wenigstens so lange Temperatur und Alkaligehalt eine gewisse Grenze nicht überschreiten, keine Braunfärbung statt, die Zersetzung ist aber eine schnellere und als einzige Zersetzungsproducte treten Aldehyd und Ameisensäure auf (Framm[3]). Kohlensaure Alkalien wirken wie Aetzalkalien, nur schwächer. Auch andere alkalisch reagirende Salze, wie Natriumphosphat, Natriumacetat zersetzen in der Wärme den Traubenzucker, sodass Traubenzuckerlösungen bei auch nur schwach alkalischer Reaction nicht ohne Verlust gekocht oder eingedampft werden können.

Der Traubenzucker verbindet sich mit Kupferoxyd. Die Verbindung löst sich leicht in Alkalilauge zu dunkelblauer Flüssigkeit, kann aber auch als Niederschlag $C_6H_{12}O_6 . 5\,Cu(OH)_2$ erhalten werden, wenn man zu einer Lösung, die 1 Mol. Traubenzucker enthält (die Lösung muss mindestens 0,5 proc. sein), 5 Mol. Kupfersulfat und 11 Mol. Natronhydrat fügt. Die nach einiger Zeit abfiltrirte Flüssigkeit ist dann zuckerfrei[4]). Die alkalische Kupferoxydtraubenzuckerlösung ist sehr zersetzlich, schon nach kurzem Stehen scheidet sich gelbes Kupferoxydulhydrat oder rothes Kupferoxydul aus, während die Flüssigkeit sich entfärbt (über die quantitativen Verhältnisse siehe bei „Untersuchung des Harns“); in der Wärme geht diese Reaction augenblicklich vor sich: der Zucker wird oxydirt, indem sich Ameisensäure, Tartronsäure, Essigsäure und andere Säuren bilden[5]). Ebenso erfährt auch das Wismuthoxydhydrat beim Kochen mit alkalischer Traubenzuckerlösung Reduction zu metallischem Wismuth, auch Gold-, Platin-, Silber-, Quecksilbersalze werden durch dieselbe reducirt, Ferricyankalium in Ferrocyankalium umgewandelt und Indigo zu Indigoweiss reducirt.

Verhalten zu Schwermetallen. Reductionsvermögen.

---

1) Scheibler bei Leo, Arch. f. pathol. Anat. **107**. 109. (1887.)

2) Lobry de Bruyn u. van Ekenstein, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **28**. 3078. (1895.)

3) Arch. f. d. ges. Physiol. **64**. 575. (1896).

4) Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chemie. **3**. 79. (1879).

5) Claus, Ann. Chem. Pharm. **147**. 114. (1868), Journ. f. prakt. Chemie. N. F. **4**. 63. (1871.)

Verhalten zu Säuren.

In sauren Lösungen ist der Traubenzucker beständig, auch beim Kochen oder Abdampfen seiner mit Essigsäure oder Salzsäure angesäuerten Lösungen (Bickel[1]), mit verdünnten Mineralsäuren erhitzt liefert er Huminsubstanzen, Ameisensäure, Lävulinsäure[2]) und Furfurol[3]). Durch conc. Salpetersäure in der Wärme wird er in Zuckersäure und Oxalsäure übergeführt.

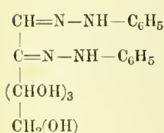
Verbindungen: mit Benzoësäure.

Mit den verschiedensten anorganischen und organischen Säuren bildet er unter geeigneten Bedingungen esterartige Verbindungen, unter denen die Benzoësäureester besondere Bedeutung erlangt haben[4]). Schüttelt man Traubenzucker (5 g in 0,5 proc. Lösung) mit Benzoylchlorid (40 g) und Natronlauge (300 ccm 10 proc. Lösung) bis zum Verschwinden des Geruches nach Benzoylchlorid, so erhält man in Wasser unlösliche, in Alkohol, Aether, Benzol lösliche Niederschläge, welche Gemenge mehrfach benzoylirter Glykose darstellen[5]).

mit Harnstoff.

Mit Harnstoff vereinigt er sich bei Gegenwart von verdünnter Schwefelsäure zu einer in Wasser leicht löslichen krystallisirenden Verbindung $C_6H_{12}O_5 . NCO . NH_2$ (Sm.-P. 206°), die links dreht (für 1 proc. Lösungen $[\alpha]_D = -23°$) und durch Kochen mit verdünnter Säure zerlegt wird[6]).

mit Phenylhydrazin.



Der Traubenzucker verbindet sich auch mit einer Reihe von aromatischen Aminen. Die Reaction mit Phenylhydrazin in essigsaurer Lösung auf dem Wasserbade verläuft nach der Gleichung $C_6H_{12}O_6 + 2\ C_6H_5N_2H_3 = C_{18}H_{22}N_4O_4 + 2\ H_2O + 2\ H$; das entstandene d-Phenylglykosazon krystallisirt in gelben Nadeln, ist in Wasser fast unlöslich, in heissem Alkohol leicht löslich, schmilzt bei 204—205° [7]) und dreht in Eisessig gelöst links. In Pyridin löst sich das Osazon leicht (0,25 g in 1 g); auf Zusatz von Benzol, Ligroïn, Aether scheidet es sich aus dieser Lösung wieder krystallinisch ab. Dieses Verhalten kann zur Reinigung benutzt werden. Eine Lösung von 0,2 g in 4 ccm reinem Pyridin und 6 ccm absolutem Alkohol dreht in 10 cm langer Schicht bei Natriumlicht —1° 30′ (Neuberg[8]).

mit Benzylphenylhydrazin.

Auf Zusatz von Benzylphenylhydrazin in essigsaurer oder alkoholischer Lösung entsteht in einer Traubenzuckerlösung das schon oben erwähnte d-Glykosebenzylphenylhydrazon $C_{19}H_{24}N_2O_5$ (Sm.-P. 165°), das in Wasser und Alkohol wenig löslich ist, und aus dem durch Kochen mit Formaldehyd

---

1) Arch. f. d. ges. Physiol. **75**. 248. (1899).

2) Tollens, Ann. Chem. Pharm. **206**. 207. (1881.) Conrad u. Guthzeit, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **19**. 2569. (1886).

3) Emmet, Journ. f. prakt. Chemie. N. F. **12**. 120. (1875).

4) Baumann, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **19**. 3220. (1886).

5) Kueny, Zeitschr. f. physiol. Chemie. **14**. 330. (1890).
Skraup, Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wissensch. Wien, Naturw. Klasse. **98**. IIb. 438. (1888.)

6) Schoorl, Rec. trav. chim. Pays-Bas. **19**. 398. (1901.)

7) E. Fischer, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **17**. 579. (1884) u. **20**. 821. (1887).

8) Ber. d. d. chem. Ges. **32**. 3384. (1899.)

Traubenzucker wieder abgespalten werden kann. Amyl- und Allylphenylhydrazin geben analoge Verbindungen.

Der Traubenzucker dreht in wässeriger Lösung die Ebene des polarisirten Lichtes nach rechts und zwar ergiebt sich die specifische Drehung für Lösungen, welche erhitzt waren oder längere Zeit gestanden hatten, aus folgenden Formeln: für den wasserfreien Traubenzucker $[\alpha]_D = 52{,}50^0 + 0{,}018796\ p + 0{,}00051683\ p^2$, für den wasserhaltigen $[\alpha]_D = 47{,}73^0 + 0{,}015534\ p + 0{,}0003883\ p^2$, wobei p den Procentgehalt der Lösung an Traubenzucker bezeichnet[1]). Darnach ist die specifische Drehung sehr verdünnter Lösungen am geringsten, sie nimmt allmählich zu, ist bei 10proc. Lösungen 52,74⁰ resp. 47,92⁰ und bei 100proc. Lösungen 59,5⁰ resp. 53,17⁰. Der in kaltem Wasser gelöste, krystallisirte Traubenzucker besitzt gleich nach dem Auflösen eine höhere Rechtsdrehung, die sich beim Stehen allmählich, schnell beim Erhitzen vermindert, bis sie schliesslich constant wird (Mehrdrehung). Optische Eigenschaften.

Mit Bierhefe in Berührung geht der Traubenzucker in wässeriger Lösung, wenn die Temperatur zwischen 10—40⁰ beträgt, sofort die alkoholische Gährung ein, welche im Wesentlichen nach der Formel $C_6H_{12}O_6 = 2\ C_2H_6O + 2\ CO_2$ verläuft. Die Gährung geht am besten bei etwa 34⁰ vor sich[2]). Die Gährung zerlegt nur dann den ganzen vorhandenen Zucker, wenn die Lösung nicht über 15 pCt. davon enthält, da in concentrirteren Lösungen der gebildete Alkohol die Gährung endlich inhibirt. Durch zahlreiche Bacterien wird der Traubenzucker in Milchsäure übergeführt, solche Bacterien finden sich regelmässig in saurer Milch und im Käse. Diese Gährung verläuft langsamer als die alkoholische. Gährungen.

92. **Nachweis des Traubenzuckers.** Um in einer Flüssigkeit Zucker aufzusuchen, hat man stets zunächst die Eiweissstoffe, wenn sie vorhanden sind, daraus zu entfernen. Ist die Flüssigkeit alkalisch oder neutral, so fügt man zu diesem Zwecke Essigsäure bis zur schwach sauren Reaction hinzu, erhitzt zum Kochen und filtrirt. So verfährt man beim Harn. Eiweissreiche Flüssigkeiten wie Blut mischt man besser mit dem drei- bis vierfachen Volumen starkem Alkohol, lässt einige Zeit stehen, ohne zu erwärmen, filtrirt dann ab und verdunstet auf dem Wasserbade zur völligen Entfernung des Alkohols. Wenn sich noch Eiweissstoffe ausgeschieden haben, extrahirt man den Rückstand nochmals mit viel Alkohol, filtrirt, verdunstet den Alkohol und löst den Rückstand in wenig Wasser. Mit diesen so erhaltenen eiweissfreien Flüssigkeiten macht man die folgenden Proben: Nachweis.

1) Man untersucht dieselben im Polarisationsapparate, ob sie eine

---

[1]) Tollens, Ber. d. deutschen chem. Gesellsch. **17**. 2238. (1884) u. Handbuch der Kohlehydr. S. 44.

[2]) Jodlbauer, Zeitschr. d. Vereins f. Rübenzuckerindustrie. 1888. S. 309.

Rechtsdrehung besitzen, welche unverkennbar sein wird, wenn die Flüssigkeit nicht etwa nur Spuren von Traubenzucker enthält.

Für den Harn: Ist der Harn trübe oder dunkelgefärbt, so schüttelt man ihn mit etwas pulverisirtem neutralen Bleiacetat und benutzt das Filtrat zur Polarisation.

2) Bringt man in ein Reagensglas etwas Quecksilber, füllt es dann völlig mit einer Traubenzucker enthaltenden neutralen oder schwach sauren Flüssigkeit, die mit etwas frischer Hefe versetzt ist, verschliesst es durch Aufsetzen des Fingers und stellt es umgekehrt in eine mit Quecksilber gefüllte Schale, so zeigt sich bald Gasentwicklung (Kohlensäure). Dieselbe erfolgt schon bei Zimmertemperatur, schneller bei Bruttemperatur und ist am nächsten Tage beendet. Bringt man dann in das Reagensglas mit einer gekrümmten Pipette etwas conc. Alkalilauge, so wird das entwickelte Gas fast vollständig absorbirt. Es ist zu bemerken, dass Hefe auch in vollständig zuckerfreien Lösungen geringe Mengen von Gas liefert (Selbstgährung der Hefe). Um sich vor Irrthum zu hüten, ist es zweckmässig, in einem Controlversuch, den man mit Wasser und Hefe in derselben Weise anstellt, die Hefe auf etwaige Beimengung von gährungsfähigem Zucker zu prüfen.

Mit Harn stellt man die Probe in derselben Weise an.

3) Moore's Probe: Man versetzt eine Probe der zu untersuchenden Flüssigkeit im Probirglase mit Alkali bis zur stark alkalischen Reaction und erhitzt allmählich das Gemisch zum Sieden. Ist Zucker vorhanden, so wird die Flüssigkeit erst gelb, dann braunroth, endlich dunkelbraun bis schwarz gefärbt. Ist wenig Zucker vorhanden, so tritt nur gelbe oder röthliche Farbe ein. Geruch nach Caramel.

Für den Harn nur deutlich bei heller Farbe des Harns resp. bei reichem Zuckergehalt.

4) Trommer's Probe: Eine andere Probe versetzt man mit überschüssigem Alkali und fügt dann unter gutem Umschütteln so lange tropfenweise eine verdünnte Lösung von schwefelsaurem Kupferoxyd hinzu, als der entstehende Niederschlag sich in der Flüssigkeit wieder auflöst. Man erhitzt dann allmählich bis zum Sieden. Enthält die Flüssigkeit Traubenzucker, so löst sie reichlich Kupferoxydhydrat zur dunkelblauen Flüssigkeit und es scheidet sich beim Kochen reichlich der gelbe oder rothe Niederschlag von Kupferoxydul aus. Ist mehr Zucker in der Flüssigkeit, als das zugefügte Kupferoxyd zu oxydiren vermag, so wirkt das freie Alkali auf den übrigen Zucker ein und die Flüssigkeit färbt sich allmählich beim Sieden gelb bis braunroth. Hat man dagegen mehr Kupferoxyd hinzugefügt, als der Zucker zu reduciren vermag, so scheidet sich beim Kochen auch schwarzes Kupferoxyd aus und dies verdeckt dann leicht das gleichzeitig ausgeschiedene Kupferoxydul. Man hat sich deshalb wohl in Acht zu nehmen vor zu grossem Ueberschuss der Kupferlösung, während Alkali in grossem Ueberschusse angewendet der Reaction keinen Eintrag thut.

Verschiedene organische Stoffe verlangsamen oder verhindern die Abscheidung des bei dieser Reaction sich bildenden Kupferoxyduls; ziemlich reichlich finden sich solche Körper im normalen menschlichen Harne, in viel geringerer Menge im diabetischen Harne. Wenn nun die Veränderung der Farbe, aber keine Oxydulabscheidung zu bemerken ist, erkennt man die geringsten Spuren des gebildeten Oxyduls, wenn man im Probirglase auf die gekochte und etwas erkaltete Flüssigkeit verdünnte Salzsäure vorsichtig schichtet. Der obere Theil der Flüssigkeit wird hierbei übersättigt und an der Grenze der Flüssigkeiten zeigt sich ein sehr feiner weisser bis gelber oder röthlicher Niederschlag, der sich dann allmählich zu Boden senkt. Mittelst der Trommer'schen Probe kann der Zucker in 1 ccm einer 0,0025 proc. wässerigen Lösung noch nachgewiesen werden, doch gilt diese Schärfe nur für sehr günstige Verhältnisse.

Mit dem Harn stellt man die Probe in derselben Weise an. Reichliches Lösungsvermögen für Kupfersulfat und das Auftreten eines deutlichen gelben oder rothen Niederschlags beim Erwärmen sind für Zucker charakteristisch. Da aber jeder normale Harn Stoffe enthält, welche Kupferoxyd in Lösung halten und reduciren, und solche, welche das Kupferoxydul am Ausfallen verhindern, so kann die Probe in manchen Fällen besonders bei geringem Zuckergehalt zweifelhaft bleiben. Um sie nun auch bei solchen zweifelhaften Fällen möglichst empfindlich und für Traubenzucker beweisend zu machen, wird sie nach den umfassenden Untersuchungen von Worm-Müller[1]) am besten in folgender Weise angestellt: In einem Reagensglas werden 5 ccm filtrirter Harn, in einem anderen 1 ccm 2,5 proc. Kupfersulfatlösung und 2,5 ccm alkalischer Seignettesalzlösung (auf 100 ccm 4 proc. Natronlauge 10 g weinsaures Kalinatron) erhitzt. 20—25 Sek. nach Unterbrechung des Kochens giesst man den Inhalt beider Reagensgläser zusammen, ohne zu schütteln und beobachtet nun, ob sofort oder nach einigen Minuten eine bei auffallendem Licht schmutzig gelbgrüne Färbung entsteht, welche von fein vertheiltem Kupferoxydul herrührt. Erhält man keine Ausscheidung mit 1 ccm, so muss man die Probe mit 2, 2,5 u. s. w. ccm wiederholen, bis entweder Ausscheidung erfolgt oder die Flüssigkeit nicht mehr entfärbt wird.

5) Barfoed's Probe: Kocht man Traubenzuckerlösungen mit einer schwachen Lösung von essigsaurem Kupfer, der etwas Essigsäure zugesetzt ist, so scheidet sich Kupferoxydul ab.

6) Boettger's Probe: Man fügt zu einer Portion der zu prüfenden Flüssigkeit eine Messerspitze voll Wismuthoxyd oder basisch salpetersaures Wismuthoxyd, alsdann einige Messerspitzen Soda, erhitzt nun zum Sieden und erhält einige Zeit im Sieden. Enthält die Flüssigkeit Traubenzucker, so färbt sich der Niederschlag bald grau, endlich schwarz, durch Reduction des Wismuthoxydes. Sind nur Spuren von Zucker zu vermuthen, so ist auch weniger Wismuthoxyd zur Probe zu verwenden, als wenn reichlicher Gehalt anzunehmen ist.

Für den Harn, speciell bei geringem Zuckergehalt desselben, ist die Probe nach der Modification von Almén-Nylander[2]) auszuführen: Die Reactionsflüssigkeit (darge-

---

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. **27**. 112. (1882.)

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chemie. **8**. 175. (1883—1884.)

stellt durch Zusammenbringen von 100 g 5,2 proc. Natronlauge, 4 g Seignettesalz und 2 g Bism. subnitr. und Abfiltriren der Flüssigkeit von ungelöstem Wismuthsalz) wird zum Harn im Verhältniss von 1 : 10 gesetzt und darauf die Mischung einige Minuten gekocht; es entsteht ein schwarzer Niederschlag. Nach Eingabe von Rheum tritt die Reaction auch in zuckerfreien Harnen auf (Salkowski[1]).

7) Rubner's Probe[2]). Versetzt man Traubenzuckerlösungen mit einer grösseren Menge gepulverten Bleiacetats, kocht einige Zeit, träufelt dann in die siedende Lösung Ammoniak, bis eben ein dauernder Niederschlag entsteht, so färbt sich fast unmittelbar die ganze Lösung gelb und je nach der Concentration dann roth; es setzt sich ein ebenso gefärbter flockiger Niederschlag ab, der aber bald in eine an Bleioxyd erinnernde gelbe Farbe übergeht.

Für die Ausführung dieser Probe im Harn ist hinzuzufügen, dass man auf 10 ccm Harn 3 g Bleiacetat nimmt, von dem reichlich entstehenden Niederschlag abfiltrirt und mit dem Filtrat die Probe ausführt. Concentrirte Harne müssen zunächst mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt werden.

8) Phenylhydrazinprobe von E. Fischer[3]). Versetzt man eine wässerige Traubenzuckerlösung mit einigen Tropfen Phenylhydrazin und ebensoviel Tropfen 50 proc. Essigsäure und erwärmt auf dem Wasserbade, so scheiden sich allmählich gelbe Nadeln von d-Phenylglykosazon ab.

Für den Harn empfiehlt sich die Ausführung dieser Probe in folgender von A. Neumann[4]) angegebenen Modification, welche selbst bei sehr geringem Zuckergehalt in kurzer Zeit sehr reine und schön ausgebildete Krystalle liefert: 5 ccm Harn werden mit 2 ccm mit Natriumacetat gesättigter 50 proc. Essigsäure und 2 Tropfen reinem Phenylhydrazin in einem Reagensglas*) auf 3 ccm eingekocht, nach schnellem Abkühlen nochmals erwärmt und der langsamen Abkühlung überlassen. Noch bei Anwesenheit von 0,02 pCt. Traubenzucker scheiden sich in 5—10 Minuten schön ausgebildete Osazonkrystalle ohne Beimengung aus. Hat der Harn bei geringem Zuckergehalt hohes spec. Gewicht, so muss man etwas länger warten.

9) Furfurolreaction von Molisch[5]) und v. Udránszky[6]). Versetzt man einen Tropfen der Traubenzuckerlösung in einem Reagensglas mit 1 Tropfen einer 10 proc. Lösung von α-Naphtol in acetonfreiem Methylalkohol und genau $\frac{1}{2}$ ccm Wasser, lässt dann vorsichtig unter das Gemisch genau 1 ccm reine conc. Schwefelsäure fliessen und schüttelt nun um, so tritt violette bis himbeerrothe Farbe auf. Der entstandene Farbstoff zeigt Spectralerscheinungen.

---

*) Neumann benutzt sog. Kugelreagensgläser, welche mit Marken für 3, 5 und 7 ccm versehen sind und oberhalb dieser Graduirung eine kugelförmige Erweiterung haben. Sie gestatten bei fast horizontaler Haltung ein sehr schnelles Eindampfen.

1) Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1885. S. 433.

2) Zeitschr. f. Biologie. **20**. 397. (1884.)

3) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **17**. 579. (1884) und **22**. 90, Anm. (1889).

4) Arch. f. Anat. u. Physiol. Physiol. Abthlg. 1899. Suppl.-Bd. S. 549. Margulies, Berl. klin. Wochenschr. 1900. S. 881.

5) Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wissensch. **93**. II. 912. (1886.)

6) Zeitschr. f. physiol. Chem. **12**. 355 u. 377. (1888.)

Um im Harn[1]) die Probe anzustellen, verdünnt man denselben zunächst auf das Zehnfache mit Wasser. Die oben angegebenen Mengen müssen genau eingehalten werden; es ist ferner darauf zu achten, dass die Reagensgläser vollständig rein und frei von Papier, Staub, Baumwollfasern sind, und ebenso, dass die Reagentien ganz rein sind. Beim Zusammenbringen von 1 Tropfen α-Naphtollösung, $^1/_2$ ccm Wasser und 1 ccm der zu benutzenden conc. Schwefelsäure darf nach dem Umschütteln die grüngelbe oder gelbe Farbe keinen röthlichen oder violetten Schimmer annehmen.

10) Reaction von G. Hoppe-Seyler[2]) zum Nachweis von Zucker im Harn. 5 ccm (1 Theelöffel) des Reagens (0,5 proc. Lösung von o-Nitrophenylpropiolsäure in Natronlauge und Wasser) werden mit etwa 10 Tropfen des zu untersuchenden Harns versetzt, dann etwa $^1/_4$ Minute gekocht. Wird die Lösung dunkelblau (Indigo), so sind reducirende Substanzen mindestens = 0,5 pCt. Zucker vorhanden. Normaler Harn giebt erst bei Zusatz von mindestens 1 ccm Grünfärbung, eine deutliche Blaufärbung ist auch bei grösseren Mengen gewöhnlich nicht zu erzielen. Gehalt des Harns an Eiweiss schadet nicht.

93. Was nun die Beweiskraft der einzelnen Proben betrifft, so kann die Furfurolreaction, welche eine allgemeine Kohlehydrat- und Eiweissreaction ist, keine Entscheidung über die Anwesenheit von Traubenzucker geben, ebenso wenig die Trommer'sche Probe, denn es giebt eine ganze Reihe anderer Stoffe, welche ebenfalls Kupferoxyd reduciren. Die Barfoed'sche Probe geben Maltose und Milchzucker nicht, die Rubner'sche giebt Milchzucker nicht. Die Rechtsdrehung schützt nicht vor der Verwechselung mit Maltose, Galactose, Dextrin, Pentosen; die Gährfähigkeit nicht vor der Verwechselung mit Maltose, Fructose (Laevulose). Dasselbe Osazon wie Traubenzucker geben auch Fructose und Chitosamin. Die Osazone anderer Zucker geben ähnliche mikroskopische Bilder, unterscheiden sich aber im Schmelzpunkt. Zuweilen ist der sichere Nachweis der Anwesenheit der Glykose nur durch Identificirung der isolirten Krystalle zu führen.

Beim Harn handelt es sich in der Regel nur darum, zu entscheiden, ob derselbe als diabetisch zu bezeichnen ist oder nicht. Bei reichlichem Zuckergehalt wird jede der Proben ein unzweideutiges Resultat geben, bei geringem Gehalt kann der Ausfall mancher Proben wohl gelegentlich im Ungewissen lassen. In Bezug auf die Worm-Müller'sche und Almén'sche Reaction ist zu bemerken, dass sie zuweilen, auch mit normalem Harn angestellt, positiv ausfallen und zwar dann, wenn der normale Kohlehydratgehalt des Harns sich seinem physiologischen Maximum nähert. Es ist Sache der Uebung bei diesen Reactionen, ebenso wie bei der Trommer-schen, aus der Grösse und Art des Niederschlags zu beurtheilen, ob ein Harn von pathologischem Zuckergehalt ist. Sehr empfehlenswerth ist die Phenylhydrazinprobe in der Neumann'schen Ausführung. Die Furfurol-

---

[1]) Siehe auch Luther, Inaug.-Dissert. Freiburg 1890.
Roos, Zeitschr. f. physiol. Chemie. **15**. 513. (1891.)
Treupel, ebendas. **16**. 47. (1892.)

[2]) Ebendas. **17**. 83. (1893).

reaction stellt sehr hohe Ansprüche an die Reinheit der Gläser und Reagentien und an die Sorgfalt des Untersuchers, dürfte sich deshalb nicht für Jedermann eignen. Die sicherste Traubenzuckerprobe ist unzweifelhaft die Gährprobe: sie ist weder so empfindlich, dass sich in das Bereich des Normalen fallender Zuckergehalt durch sie zu erkennen giebt, noch gestattet sie Verwechselung mit irgend einem anderen normalen oder pathologischen Harnbestandtheile*); sie fällt auch negativ aus, wenn der Harn — wie in manchen Fällen von Milchstauung bei Wöchnerinnen — Milchzucker enthält, während die auf Reduction beruhenden Proben, ebenso wie die polarimetrische Probe in solchen Fällen ein positives Resultat geben können. Die Reaction von G. Hoppe-Seyler hat ebenfalls den grossen Vortheil, dass sie erst bei pathologischem Zuckergehalt eintritt, ausserdem verlangt sie nur ein einziges und zwar gut haltbares Reagens und ist bei Eiweissgehalt ausführbar. Eine Unterscheidung von Milch- und Traubenzucker mit ihr ist allerdings auch nicht möglich. Für diese Unterscheidung eignet sich die Rubner'sche Probe.

94. **Linksdrehende Zucker.** Leo'scher Zucker $C_6H_{12}O_6$ wurde von Leo[1]) aus drei diabetischen Harnen dargestellt. Vom gleichzeitig vorhandenen Traubenzucker lässt er sich durch Ausfällen der methylalkoholischen Lösung mit methylalkoholischer Barytlösung trennen, durch welche der Leo'sche Zucker nicht niedergeschlagen wird.

Er stellt einen nicht süss, sondern scharf und salzartig schmeckenden, nicht krystallisirenden Syrup dar, welcher in Wasser leicht, in Methylalkohol weniger leicht, in Aether, Chloroform unlöslich ist; er wird durch Bleiessig nur bei Gegenwart von Ammoniak gefällt. Mit Phenylhydrazin giebt er nur eine ölige Verbindung. Er löst Kupferoxyd in alkalischer Lösung (es entsteht dabei aber keine lazurblaue Färbung) und reducirt dasselbe, nachdem einige Secunden gekocht ist. Das Reductionsvermögen beträgt nur 0,4024 von dem des Traubenzuckers; er dreht die Ebene des polarisirten Lichtes nach links und zwar ist $[\alpha]_D = -26{,}07^0$. Mit Hefe gährt er nicht.

Zucker von der Formel $C_6H_{12}O_6$ (Fructose?) wurde von Külz[2]) aus dem Harn einer an Diabetes intermittens leidenden Frau isolirt. Er stellt einen süss schmeckenden Syrup dar, reducirt alkalische Kupferlösung, bildet ein Osazon, welches nach Zusammensetzung, Eigenschaften und Schmelzpunkt d-Glykosazon ist, ist linksdrehend, vergährt langsam mit Hefe und giebt die für Fructose charakteristische Reaction von Seliwanoff[3]) (Rothfärbung beim Erwärmen mit Salzsäure [conc. Salzsäure und Wasser zu gleichen Theilen] und etwas Resorcin). Er stimmt im Allgemeinen also mit der Fructose überein, unterscheidet sich von dieser aber dadurch, dass er durch Bleiessig gefällt wird. Auch von May[4]) wurde das Vorkommen von Fructose in einem Fall wahrscheinlich gemacht.

---

*) Mit einziger Ausnahme von Fructose und ähnlichen Kohlehydraten, welche aber durch ihre optischen Eigenschaften leicht zu unterscheiden sind. Ueber ihr äusserst seltenes Vorkommen im Harn siehe folgenden Paragraphen.

[1]) Arch. f. pathol. Anat. **107**. 99. (1887.)

[2]) Zeitschr. f. Biologie. **27**. 228. (1890.)

[3]) Ber. d. d. chem. Ges. **20**. 181. (1887.)

[4]) Deutsch. Arch. f. klin. Med. **57**. 279. (1897.)

95. **d-Galactose** $C_6H_{12}O_6$. Galactose findet sich als solche nicht im Organismus, sie entsteht beim Erhitzen von Milchzucker und von Cerebrin[1] mit verdünnten Säuren, im ersteren Fall neben Glykose; sie lässt sich auch aus zahlreichen Gummiarten und Schleimstoffen des Pflanzenreichs durch Spaltung mit Säuren erhalten[2]. CHO | CH(OH)$_4$ | CH$_2$(OH)

Zu ihrer Darstellung kocht man Milchzucker mit verdünnter Salz- oder Schwefelsäure[3].

Sie krystallisirt in zu Warzen vereinigten Nadeln oder Blättchen, die bei 168° schmelzen, ist in Wasser schwerer löslich als Glykose; sie reducirt alkalische Kupferoxydlösung und zwar etwas schwächer als Glykose (1 ccm unverdünnter Fehling'scher Lösung entspricht nach Soxhlet[4]) 0,00511 g Galactose in 1 proc. Lösung). Mit Phenylhydrazin bildet sie ein bei 193° schmelzendes Osazon[5]), welches in Wasser fast unlöslich, in Alkohol etwas leichter löslich ist als das Glykosazon und in eisessigsaurer Lösung keine wahrnehmbare Drehung zeigt. In Pyridin löst es sich leicht und wird durch Zusatz von Benzol, Ligroïn, Aether wieder krystallinisch ausgeschieden. Eine Lösung von 0,2 g in 4 ccm reinem Pyridin und 6 ccm absolutem Alkohol dreht in 10 cm langer Schicht bei Natriumlicht + 0° 48′ (Neuberg a. a. O.). Mit Benzylphenylhydrazin reagirt die Galactose wie der Traubenzucker, nur mit dem Unterschied, dass der Niederschlag fast augenblicklich entsteht. Sm.-P. 154°. Mit Benzoylchlorid erhält man fünffach benzoylirte Galactose[6]), bei der Oxydation mit Salpetersäure Schleimsäure. Sie zeigt rechtsseitige Circumpolarisation und zwar ist $[\alpha]_D = 83{,}883° + 0{,}0785\,p - 0{,}209\,.\,t$, wobei p Procentgehalt und t Temperatur bedeutet[7]), sie zeigt auch Mehrdrehung wie der Traubenzucker (S. 93). Sie wird durch eine grosse Anzahl von Hefearten vergohren. Eigenschaften.

Kohlehydrate von der Formel $C_{12}H_{22}O_{11}$.

96. **Maltose** $C_{12}H_{22}O_{11}$ entsteht aus Glykogen und Amylum durch Einwirkung diastatischer Fermente und als Zwischenproduct durch Kochen mit verdünnter Salz- oder Schwefelsäure.

---

[1]) Thierfelder, Zeitschr. f. physiol. Chem. **14.** 209. (1890).

[2]) Müntz, Compt. rend. **102.** 624 und 681. (1886.)
v. Lippmann, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **20.** 1001 (1887.), hier auch weitere Literaturangaben.

[3]) Kent und Tollens, Ann. Chem. Pharm. **227.** 221. (1885.)

[4]) Journ. f. prakt. Chem. N. F. **21.** 271. (1880.)

[5]) E. Fischer, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **20.** 826 (1887), **23.** 385 und 2119. (1890.)

[6]) Skraup, Monatsh. f. Chem. **10.** 389. (1889.)

[7]) Meissl, Journ. f. prakt. Chem. N. F. **22.** 97. (1880.)

Synthetisch ist sie noch nicht erhalten. Ueber ihre Darstellung siehe bei Herzfeld[1]).

Eigenschaften. Sie krystallisirt in feinen, weissen zu Warzen vereinigten Nadeln mit 1 Mol. Krystallwasser, das bei 135° entweicht, ist leicht löslich in Wasser, auch ziemlich leicht löslich in Alkohol (aber schwerer wie Glykose) und wird aus der alkoholischen Lösung durch Aether in weissen nadelförmigen Krystallen ausgefällt, während zugleich vorhandene Glykose gelöst bleibt. Sie löst Kupferoxyd in alkalischer Lösung und reducirt es, aber schwächer als Traubenzucker und zwar wird 1 ccm unverdünnte Fehling'sche Lösung bei 4 Minuten langem Sieden reducirt von 7,78 mg wasserfreier Maltose in annähernd 1 proc. Lösung[2]); sie reducirt essigsaures Kupferoxyd (Barfoed's Reagens) nicht, während Glykose dasselbe reducirt. Die Maltose giebt in wässeriger Lösung mit Hefe alkoholische Gährung.

Verbindungen: mit Phenylhydrazin. Die Maltose verbindet sich mit Phenylhydrazin in essigsaurer Lösung bei $1^1/_2$ stündigem Erwärmen auf dem Wasserbad zu Phenylmaltosazon $C_{24}H_{32}N_4O_9$, das sich beim Erkalten in gelben, nicht zu Aggregaten vereinigten Nadeln abscheidet, sich in etwa 75 Theilen heissem Wasser löst und bei 206° unter Zersetzung schmilzt[3]). In Pyridin ist es leicht löslich und wird durch Benzol, Ligroïn, Aether krystallinisch ausgeschieden. Eine Lösung von 0,2 g in 4 ccm reinem Pyridin und 6 ccm absolutem Alkohol dreht in 10 cm langer Schicht bei Natriumlicht + 1° 30' (Neuberg a. a. O.)

mit Benzoësäure. Mit Benzoylchlorid und Natronlauge liefert sie fünffach und sechsfach benzoylirte Maltose[4]).

Zersetzungen. Durch Alkalien wird sie unter Bildung von Milchsäure leicht zersetzt. Durch Kochen mit verdünnten Säuren wird sie in Glykose übergeführt. Die Spaltung erfolgt langsamer wie die des Rohrzuckers. Die beste Ausbeute erhält man bei dreistündigem Kochen von Maltose mit 3proc. Schwefelsäure, indem aus 100 g wasserhaltiger Maltose 98,3—98,9 g wasserfreie Glykose entstehen[5]). In derselben Weise spaltend, wenn auch langsamer, wirken invertirende Fermente (Maltase), wie sie im Speichel, Blutserum, in der Dünndarmschleimhaut, Pancreasdrüse und in vielen anderen Organen vorkommen. Bei längerem Kochen mit Säuren entstehen Laevulinsäure und wenig Furfurol, ebenso wie aus Glykose.

Oxydation. Bei der Oxydation entsteht Glykonsäure resp. Zuckersäure, durch vor-

---

[1]) Ann. Chem. Pharm. **220**. 209. (1883.)

[2]) Soxhlet, Journ. f. prakt. Chemie. N. F. **21**. 285. (1880.)

[3]) E. Fischer, Ber. der deutsch. chem. Ges. **17**. 583 (1884), **20**. 831 (1887), **23**. 2119 (1890).

[4]) Skraup, Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wissensch. Wien. Naturw. Klasse. **98**. IIb. 438. (1888.)
Kueny, Zeitschr. f. physiol. Chemie. **14**. 349. (1890.)

[5]) Meissl, Journ. f. prakt. Chem. N. F. **25**. 126. (1882.)

sichtige Oxydation mit Brom Maltobionsäure, welche beim Erwärmen mit verdünnter Schwefelsäure in Glykose und Glykonsäure zerfällt[1]).

Das specifische Rotationsvermögen ist nach Meissl[2]) veränderlich, wird mit steigender Concentration der Lösung, ebenso mit steigender Temperatur geringer und lässt sich im Allgemeinen ausdrücken durch die Formel $[\alpha]_D = + 140,375^0 - 0,01837\ p - 0,095\ t$, in welcher p den Procentgehalt an wasserfreier Maltose und t die Temperatur bezeichnet. Bei Anwendung einer 20 cm langen Beobachtungsröhre giebt, bei 17,5⁰ und einem Gehalt zwischen 5 und 40 g Maltose in 100 ccm Lösung, die Anzahl der abgelesenen Grade der Rotation multiplicirt mit 0,362 den Gehalt an wasserfreier Maltose in Grammen für 100 ccm Lösung und zwar bis auf $\pm$ 0,05 genau. Kalt frisch bereitete, wässerige Maltoselösungen steigern allmählich beim Stehen ihr Drehungsvermögen, bis sie nach 10—12 Stunden, sofort beim Erhitzen, die obige Grösse erreicht haben (Wenigerdrehung). Optische Eigenschaften.

97. **Isomaltose** wurde von Baisch[3]) und Lemaire[4]) in kleinen Mengen in normalem Harn, von Pavy und Slau[5]) in Blut und Muskeln gefunden. Sie ensteht bei der Spaltung von Stärke und Glykogen durch Säuren (Scheibler und Mittelmeier[6]), Lintner, Cremer[7]) und durch im Speichel, Pancreassaft, Malz enthaltene diastatische Fermente (Külz und Vogel[8]), Röhmann[9]), Lintner und Düll[10]). Ihre Isolirung geschah in allen Fällen als Osazon. Vergleiche indessen dazu Brown und Morris[11]), wonach die Möglichkeit nicht ausgeschlossen erscheint, dass die aus den Spaltungsproducten der Stärke isolirte Isomaltose verunreinigte Maltose ist.

Sie wurde von E. Fischer[12]) erhalten durch 15 stündiges Stehenlassen einer bei Zimmertemperatur hergestellten Lösung von Glykose in dem vierfachen Gewicht Salzsäure (spec. Gew. 1,19) bei 15 bis 10⁰, Fällen mit Alkohol und Aether, Lösen des Niederschlags, welcher aus Glykose, Isomaltose und anderen unbekannten Stoffen besteht, in Wasser, Vergährung und Isolirung der Isomaltose als Osazon. In reinem Zustand ist sie bisher nicht dargestellt. Das Isomaltosazon bildet feine gelbe, meist zu kugeligen Aggregaten vereinigte biegsame Nadeln, löst sich in 4 Thln. heissem Wasser und ist auch in heissem Alkohol viel löslicher als das Maltosazon. Es beginnt gegen 140⁰ zu sintern und schmilzt zwischen 150 und 153⁰ oder etwas höher.

98. **Milchzucker (Lactose)** $C_{12}H_{22}O_{11}$. Der Milchzucker ist bis jetzt allein in der Milch des Menschen und der Säugethiere aufgefunden und der einzige Zucker, der in diesem Secret nachgewiesen ist; aus der Milch- Vorkommen.

---

1) E. Fischer u. Meyer, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **22**. 1941. (1889.)
2) Journ. f. prakt. Chem. N. F. **25**. 120. (1882).
3) Zeitschr. f. physiol. Chem. **20**. 249. (1895.)
4) Ebendas. **21**. 442. (1895—1896.)
5) Journ. of Physiol. **26**. 282. (1900—1901).
6) Ber. d. d. chem. Ges. **23**. 3075. (1890.)
7) Zeitschr. f. Biolog. **31**. 181. (1894.)
8) Ebendas. **31**. 108. (1894.)
9) Ctbl. f. d. med. Wissensch. 1893. S. 849.
10) Ber. d. d. chem. Ges. **26**. 2533. (1893.)
11) Journ. Chem. Soc. 1895. S. 709.
12) Ber. d. d. chem. Ges. **23**. 3687 (1890), **28**. 3024 (1895).

drüse stammend, erscheint er regelmässig in kleiner Menge auch im Harn von Wöchnerinnen.

Darstellung. Man stellt ihn aus der Kuhmilch durch Ansäuern derselben mit Essigsäure bis zur Gerinnung des Caseïns oder Ausscheiden des Caseïns durch Lab, Coliren durch ein leinenes Tuch, Erhitzen des Filtrats zum Kochen, Abfiltriren des coagulirten Albumins, Abdampfen der Molken zur Krystallisation, Abgiessen der Mutterlauge von den in einigen Tagen beim Stehen ausgeschiedenen Krystallen dar. Man reinigt ihn durch Umkrystallisiren aus warmem Wasser.

Zur Isolirung des Milchzuckers aus Harn dient das Verfahren von Hofmeister[1]).

Eigenschaften. Der Milchzucker bildet farblose, harte, glänzende, oft ziemlich grosse Krystalle, welche 1 Mol. Krystallwasser enthalten, zum rhombischen Systeme gehören und sehr ausgeprägt hemiëdrisch sind (achtseitige Prismen mit stärkerer Ausbildung von 4 Seiten gegen ihre benachbarten schmaleren, schräge Endfläche unten und oben am Prisma). Vorsichtig, allmählich auf 150° erhitzt, verliert er sein Krystallwasser ohne wesentliche weitere Zersetzung. Wird eine wässrige Lösung von Milchzucker in einem Metallgefäss schnell eingekocht, so erstarrt fast plötzlich die ganze Lösung zu einer porösen, nur aus kleinen wasserfreien Krystallen bestehenden Masse. Der Milchzucker löst sich in 6 Theilen kaltem und $2\frac{1}{2}$ Theilen kochendem Wasser (der wasserfrei krystallisirte leichter), ist unlöslich in Alkohol oder Aether. Seine wässrige Lösung hat einen schwach süssen Geschmack und färbt sich beim Erhitzen über 100° braun. Durch essigsaures Blei und Ammoniak wird Milchzucker, ebenso wie Traubenzucker aus seinen wässrigen Lösungen völlig ausgefällt, während er durch Kochen mit neutralem essigsauren Blei weder gefällt, noch verändert wird.

Verhalten zu Alkalien. Reductionsvermögen. Mit Basen verbindet sich der Milchzucker zu amorphen Körpern, alkalische Lösungen zersetzen sich ebenso wie alkalische Traubenzuckerlösungen schon bei gewöhnlicher Temperatur allmählich, schneller beim Erhitzen, gleichfalls unter Braunfärbung und Bildung von Milchsäure und Brenzcatechin. Milchzucker löst auch Kupferoxyd in alkalischer Lösung und reducirt dasselbe zu Oxydul und zwar wird 1 ccm Fehling'scher Lösung (gleichgültig ob verdünnt oder nicht) bei 6 Minuten langem Kochen von 6,76 mg Milchzucker (in 0,5—1,5 proc. Lösung) reducirt[2]). Ebenso reducirt Milchzucker Wismuthoxyd, Silberoxyd und Indigo in alkalischer Lösung, nicht aber das Barfoed'sche Reagens.

Verhalten zu Säuren u. Fermenten. In saurer Lösung in der Kälte und bei gelindem Erwärmen ist der Milchzucker beständig. Wird er aber mit verdünnter Schwefelsäure oder Salzsäure längere Zeit gekocht, so zerfällt er in Glykose und Galactose;

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **I.** 105. (1877—1878.)

[2]) Soxhlet, Journ. f. prakt. Chem. N. F. **21.** 261. (1880.)

durch Enzyme, welche in der Dünndarmschleimhaut des neugeborenen Menschen und mancher Thiere, in Kephirkörnern und in manchen Hefen enthalten sind, sowie durch Emulsin erfährt er dieselbe Spaltung. Bei stärkerer Einwirkung von Säuren entstehen Ameisensäure, Laevulinsäure, Huminsubstanzen, Furfurol. Bei der Oxydation mit Salpetersäure bilden sich Schleimsäure, Zuckersäure, weiterhin Weinsäure, Traubensäure, Oxalsäure u. s. w.; bei vorsichtiger Oxydation mit Brom bei gewöhnlicher Temperatur erhält man Lactobionsäure $C_{12}H_{22}O_{12}$, welche beim Kochen mit Säuren in Glykonsäure und Galactose zerfällt[1]).

Verbindungen: mit Benzoësäure.

Schüttelt man eine wässerige Lösung von Milchzucker mit Benzoylchlorid und Natronlauge, so scheidet sich ein Gemenge von 6 und 7 resp. 8fach benzoylirter Lactose ab[2]), erwärmt man sie auf dem Wasserbade mit Phenylhydrazin und Essigsäure, so bildet sich Phenyllactosazon, welches beim Erkalten in gelben, zu kugeligen Aggregaten vereinigten Nadeln (Sm.-P. 200°) sich abscheidet und in heissem Wasser ziemlich leicht löslich ist[3]). Es löst sich auch leicht in Pyridin und scheidet sich auf Zusatz von Benzol, Ligroïn oder Aether wieder ab. Eine Lösung von 0,2 g in 4 ccm reinem Pyridin und 6 ccm absolutem Alkohol ist in 10 cm langer Schicht inactiv. Hierdurch unterscheidet sich das Lactosazon von den Osazonen anderer Zucker, die unter denselben Bedingungen activ sind (Neuberg a. a. O.). Auf Zusatz von Benzylphenylhydrazin, in der molecularen Menge Eisessig gelöst, scheidet sich aus heissen Milchzuckerlösungen langsam ein hellgelber krystallinischer Niederschlag von Lactosebenzylphenylhydrazon (Sm.-P. 128°) ab (van Ekenstein und Lobry de Bruyn a. a. O.).

mit Phenylhydrazin.

mit Benzylphenylhydrazin.

Gährungen.

Durch die sog. Milchzuckerhefen (nicht durch die gewöhnliche Bierhefe) wird Milchzucker zu Alkohol und Kohlensäure vergohren und durch verschiedene Arten von Bacterien, welche in saurer Milch und in Käse sich finden, besonders bei Gegenwart von Kreide oder Zinkoxyd sehr schnell in Milchsäuregährung versetzt (vergl. § 73).

Optische Eigenschaften.

Der krystallwasserhaltige Milchzucker zeigt in heissem Wasser gelöst die specifische Drehung $[\alpha]_D = +52,4^0$ (Milchzucker aus menschlicher Milch[4]) und $[\alpha]_D = +52,53^0$ (Milchzucker aus Kuhmilch[5]) bei 20° und berechnet für $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$. Diese specifische Drehung ist constant bei verschiedener Concentration der Lösung bis zur Concentration von 36 g in 100 ccm Flüssigkeit, ändert sich aber mit der Temperatur in der Weise, dass in

[1]) E. Fischer u. Meyer, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **22**. 361. (1889.)
[2]) Skraup, Monatsh. für Chem. **10**. 389. (1889.)
Kueny, Zeitschr. f. physiol. Chem. **14**. 349. (1890.)
[3]) E. Fischer, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **17**. 583 (1884) und **20**. 830 (1887).
[4]) Makris, Studien über die Eiweisskörper der Frauen- und Kuhmilch. Dissert. Strassburg 1876.
[5]) Schmöger, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **13**. 1922. (1880.)

der Nähe von 20° die specifische Drehung mit Erhöhung der Temperatur abnimmt und zwar ungefähr um 0,055 . $[\alpha]_D$, wenn die Aenderung der Ausdehnung der Flüssigkeit u. s. w. durch die Wärme berücksichtigt wird. Frisch bereitet dreht die Lösung stärker als nach dem Stehen resp. Aufkochen (Mehrdrehung). Der krystallisirte wasserfreie Milchzucker hat frisch in Wasser gelöst geringe rechtsseitige Drehung, die beim Stehen zunimmt (Wenigerdrehung), verhält sich also umgekehrt, wie der wasserhaltige[1]). Schmöger beschreibt noch eine dritte Modification des Milchzuckers, welche man erhält, wenn man nicht mehr als 7 ccm einer 10proc. Lösung eindampft, und welche nur ganz schwache Mehrdrehung, vielleicht constante Drehung zeigt[2]).

Nachweis. 99. Nachweis des Milchzuckers. Hat man aus Flüssigkeiten durch etwas Essigsäure und Kochen die Eiweissstoffe coagulirt und filtrirt, so kann man in denselben zunächst durch die Trommer'sche oder Boettger'sche Probe (vergl. § 92, 4 u. 6.) das Vorhandensein oder Fehlen von Zucker constatiren. Ist Zucker vorhanden, so dampft man die Flüssigkeit bei mässiger Temperatur im Wasserbade auf ein sehr kleines Volumen ein, versetzt dann mit einem Ueberschusse von Alkohol, erhitzt zum Kochen, filtrirt, verdunstet bei mässiger Temperatur auf ein kleines Volumen und lässt den dünnen Syrup einige Tage bis Wochen zur Krystallisation stehen. Die wässerige Lösung dieser Krystalle oder auch die von Eiweiss befreite Flüssigkeit muss sich in folgender Weise verhalten, falls es sich um Milchzucker handelt:

1. Sämmtliche auf Reduction beruhenden, beim Traubenzucker besprochenen Reactionen, mit Ausnahme der Barfoed'schen, ebenso die Furfurolreaction müssen positiv ausfallen.

2. Die Flüssigkeit muss rechtsseitige Circumpolarisation zeigen und diese Rechtsdrehung muss stärker sein, wenn man die Lösung mit verdünnter Salzsäure $1/2$ Stunde lang kocht und wieder auf das frühere Volumen bringt.

3. Sie darf erst nach einstündigem Kochen mit verdünnter Schwefelsäure und Neutralisation mit Calciumcarbonat auf Zusatz von Bierhefe alkoholische Gährung zeigen.

4. Sie muss mit Salpetersäure oxydirt Schleimsäure liefern. Die Darstellung gelingt noch mit ziemlich kleinen Quantitäten Milchzucker, am Besten in der von Kent und Tollens[3]) beschriebenen Weise.

5. Sie muss mit Phenylhydrazin und Essigsäure behandelt ein Osazon von den oben beschriebenen Eigenschaften geben.

---

1) Erdmann, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **13.** 2180. (1880.)

2) Schmöger, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **14.** 2121 (1881) und **25.** 1455 (1892). Vergl. auch Tanret, Bull. soc. chim. (3.) **13.** 625. (1895.)

3) Ann. Chem. Pharm. **227.** 224. (1885.)

6. Sie muss mit viel Bleizucker 3—4 Minuten gekocht sich gelb bis bräunlich, auf Zusatz von Ammoniak, so lange sich der Niederschlag noch löst, ziegelroth färben und weiterhin einen kirschrothen bis kupferfarbenen Niederschlag absetzen (Rubner's Probe[1]).

Harne über 1020 spec. Gew. werden zunächst mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt; im Uebrigen wird die Rubner'sche Probe in derselben Weise ausgeführt, wie beim Traubenzucker beschrieben (§ 92, 7).

Kohlehydrate von der Formel $(C_6H_{10}O_5)n$.

100. **Glycogen** $(C_6H_{10}O_5)n$. In den Lebern von gut genährten Fleisch- und Pflanzenfressern, wie es scheint bei allen Wirbelthieren, findet sich Glycogen reichlich, so lange sie sich wohl befinden. Herz und Muskeln enthalten im frischen Zustande stets Glycogen. Dasselbe findet sich in allen thierischen entwickelungsfähigen Zellen, normalen wie pathologischen, reichlich in solchen normalen und pathologischen Geweben (Geschwülsten), die eine lebhafte Zellentwickelung und -neubildung zeigen, demgemäss auch im embryonalen Gewebe. Beim Hungern nimmt der Glycogengehalt in Leber und Muskeln ab, um schliesslich ganz zu verschwinden. In den Lebern kranker Thiere findet es sich nur in geringer Menge oder fehlt ganz. Besonders reichlich fand G. Bizio[2]) Glycogen in verschiedenen Muscheln, besonders Ostrea edulis, Cardium edule. Ferner ist es in Pflanzen mehrfach nachgewiesen, besonders in vielen Pilzen. Vorkommen.

Den thierischen Organen lässt sich das Glycogen zum grössten Theil durch Kochen mit Wasser entziehen, zum Theil geht es aber erst nach dem Kochen der Gewebe mit Kalilauge in Lösung.

Zur Gewinnung des Glycogens aus Leber, Muskeln u. s. w. wird nach Brücke[3]) das unmittelbar nach dem Tode entnommene und schnell zerkleinerte Organ in kochendes Wasser gebracht (auf 100 g Organ etwa 400 g Wasser) und einige Stunden gekocht, das Filtrat nach dem Erkalten mit Salzsäure und Brücke's Reagens (Anh.) in der Weise ausgefällt, dass man unter Umrühren abwechselnd Salzsäure und das Reagens zufügt, bis kein Niederschlag mehr entsteht. Man filtrirt, fügt zum Filtrat unter Umrühren zwei Volum. Alkohol von 96 Vol.-Proc. hinzu und filtrirt das ausgeschiedene Glycogen ab. Der Niederschlag wird in wenig warmem Wasser gelöst, die Lösung nach dem Erkalten nochmals mit einigen Tropfen Salzsäure und Reagens versetzt, um etwaige kleine Reste von Eiweiss zu entfernen, filtrirt und das Filtrat wieder mit Alkohol unter Umrühren gefällt. Das auf einem Filter gesammelte Glycogen wird zuerst mit Alkohol von 66 Vol.-Proc., dann mit Alkohol von 96 Vol.-Proc., darauf mit Aether Darstellung.

---

[1]) Zeitschr. f. Biolog. **20**. 397. (1884.)

[2]) Atti dell' Istituto veneto di scienze etc. Vol. XI. Ser. 3. 1866.

[3]) Sitzber. d. Wiener Akad. **53**. II. 3. Febr. 1871.

und nochmals mit Alkohol gewaschen. Im Exsiccator über Schwefelsäure getrocknet, stellt es ein feines, weisses Pulver dar, das sich leicht vom Filter schütten lässt. Statt dessen kann man das Glycogen nach Pflüger und Nerking auch direct aus dem Wasserextrakt nach Zusatz von Jodkalium und Kalilauge mit Alkohol fällen (siehe „Untersuchung der Organe"). Zur weiteren Reinigung, besonders zur Entfernung von Aschebestandtheilen und stickstoffhaltigen Beimengungen muss das auf die eine oder andere Weise gewonnene Glycogen noch wiederholt in Wasser gelöst und nach Zusatz von etwas Essigsäure mit Alkohol gefällt werden.

Eigenschaften. Das Glycogen stellt eine amorphe, farb- und geschmacklose, in Wasser lösliche, in Alkohol oder Aether unlösliche Substanz dar, die sehr hygroskopisch ist und sich bei 110—120° unter Dunkelfärbung zersetzt. Bei 100° getrocknet, hat es die Zusammensetzung $(C_6H_{10}O_5)n$ (Nerking[1]). Die wässrige Lösung zeigt eine starke, weisse Opalescenz. Sie wird durch Alkohol gefällt, eine ganz aschefreie Lösung aber erst nach Zusatz einer Spur von Chlornatrium oder essigsaurem Alkali. Sie scheidet, mit Ammonsulfat bei gewöhnlicher Temperatur oder mit Natriumsulfat bei 33° gesättigt, das Glycogen ab, nicht aber bei der halben Sättigung mit Ammonsulfat (Young[2]). Sie wird ferner gefällt durch Aetzbarytlösung und zwar entsteht bei unvollständiger Ausfällung ein Niederschlag von der Formel $5(C_6H_{10}O_5) . Ba(OH)_2$, bei vollständiger Ausfällung wechselt die Menge des Baryts im Niederschlage mit der Concentration des Barytwassers bis zu einem maximalen Gehalt, welcher der Formel $5(C_6H_{10}O_5) . 2 Ba(OH)_2$ entspricht[3]). Die Niederschläge lösen sich in reinem Wasser und werden durch Kohlensäure in Glycogen und Bariumcarbonat zerlegt. Ferner entstehen Niederschläge mit Gerbsäure, Bleiessig, schwefelsaurem Kupferoxydammoniak, Eisenchlorid, Phosphorwolframsäure bei Gegenwart von starker Salzsäure. Bleizucker bewirkt nur Trübung; leitet man Schwefelwasserstoff durch die Lösung, so bleibt das Schwefelblei (wie in Lösungen von Eiweissstoffen oder Leim) suspendirt, fällt aber auf Zusatz von Alkali nieder. In concentrirten Lösungen rufen starke Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure Niederschläge hervor, die aber beim Erwärmen sich lösen, also wohl keine Verbindungen darstellen. Beim Schütteln von Glycogenlösung mit Benzoylchlorid und Natronlauge fällt ein weisses, körniges Pulver aus, das aus benzoylirtem Glycogen besteht[4]). Kupferoxydhydrat wird durch Glycogen in alkalischer Lösung aufgelöst, aber auch beim Kochen nicht reducirt. Jod färbt Glycogen rothbraun; diese Reaction wird durch Zusatz von Kochsalz, Chlorammonium oder anderen Salzen ver-

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. **85**. 320. (1901.)
[2]) Journ. of Physiol. **22**. 401. (1897—1898.)
[3]) O. Nasse, Arch. f. d. ges. Physiol. **37**. 582. (1883.)
[4]) Wedenski, Zeitschr. f. physiol. Chem. **13**. 125. (1889.)
Kueny, Ebendas. **14**. 352. (1890.)

stärkt, man benutzt deshalb am Besten eine mit Kochsalz gesättigte Jodjodkalilösung (Nasse).

Verhalten zu Alkalien, Säuren u. Fermenten.

Beim Erhitzen von Glycogen mit Kalilauge auf dem Wasserbade wird dasselbe allmählich zersetzt, bei Gegenwart von Eiweiss in geringerem Grade; beim Kochen mit verdünnter Salz- oder Schwefelsäure wandelt es sich zunächst in Dextrine, dann in Maltose, schliesslich in Glykose um. Dieselbe Umwandlung erleidet es durch die im Speichel, Pancreassaft, Blutserum, in der Lebersubstanz enthaltenen diastatischen und invertirenden (Maltase) Enzyme. Am vollständigsten erfolgt die Umwandlung in Glykose bei 3—5stündigem Erhitzen in siedendem Wasserbad mit 2—2,2 proc. Salzsäure. Es werden dann 97 pCt. Glycogen in Glykose umgewandelt (Nerking). Durch Einwirkung von Brom und Wasser auf Glycogen entsteht Glykonsäure (Chittenden[1]), Niebel[2]). Mit schwacher Salpetersäure gekocht giebt es Oxalsäure.

Optische Eigenschaften.

Das Glycogen zeigt in wässeriger Lösung sehr starke rechtsseitige Circumpolarisation, die mit wünschenswerther Genauigkeit sich schwer bestimmen lässt wegen der starken Lichtdispersion, welche die Glycogenlösungen zeigen. Böhm und Hoffmann bestimmten sie zu $[\alpha]_j = +226,7^0$, Külz[3]) zu $[\alpha]_j = +211^0$, Cramer[4]) zu $[\alpha]_D = +200,2^0$, Huppert*) zu $[\alpha]_D = +196,63^0$. Külz fand sie unabhängig von der Concentration der Lösungen, auch unbeeinflusst durch Zusatz von Salzsäure, Kali- oder Natronlauge, Jodquecksilberjodkalium in der Kälte.

Nachweis.

Zum Nachweis des Glycogens dient die Opalescenz seiner wässrigen Lösung, das Reductionsvermögen nach der Spaltung durch Säuren oder Fermente und besonders die Jodreaction, soweit nicht Verwechselung mit Amyloïd zu befürchten ist. Da das letztere in Wasser nicht löslich ist und durch obige Fermente nicht in Zucker umgewandelt wird, so ist es leicht beide Körper gut von einander zu unterscheiden. Da aber das Glycogen an den Orten, wo es abgelagert ist, gewöhnlich zugleich Ferment vorfindet zu seiner Umwandlung in Traubenzucker, so müssen die Untersuchungen auf Glycogen in Organen oder Flüssigkeiten so schnell als möglich begonnen oder es muss durch Zusatz von Alkohol bis zur Fällung die Einwirkung des Ferments unmöglich gemacht werden.

Achrooglycogen. Aus dem Mucin, welches durch Extraction der Schnecken mit Wasser, Filtration und Fällung mit Essigsäure dargestellt war, hat Landwehr[5])

---

*) Zeitschr. f. physiol. Chem. **18**. 137. (1894.) H. invertirte das Glycogen, polarisirte die so gewonnene Traubenzuckerlösung und fand die specifische Drehung des Glycogens durch Berechnung unter Zugrundelegung der Formel $6C_6H_{10}O_5 + H_2O$.

1) American. Journ. of sc. and arts. XI. Mai 1876.

2) Zeitschr. f. physiol. Chem. **29**. 482. (1900.)

3) Arch. f. d. ges. Physiol. **24**. 85. (1881.)

4) Zeitschr. f. Biolog. **24**. 100. (1888.)

5) Zeitschr. f. physiol. Chem. **6**. 74. (1882.)

durch Behandeln mit verdünnter Kalilauge, Abscheidung der Eiweissstoffe mittelst Jodquecksilberjodkalium, Filtration und Fällung mit Alkohol einen Körper erhalten, den er Achrooglycogen genannt hat, weil er mit dem Glycogen in den Reactionen im Uebrigen übereinstimmt, aber durch Jod nicht gefärbt wird. Eine Analyse dieses Körpers, den übrigens Hammarsten[1]) nicht auffinden konnte, liegt nicht vor.

Paraglycogen. Unter diesem Namen beschreibt Bütschli[2]) einen dem Glycogen verwandten Körper, aus dem die Körner aus dem Entoplasma der Gregarinen bestehen. Diese Körner färben sich mit Jod braunroth bis braunviolett und lösen sich in heissem Wasser zu einer meist opalescirenden Flüssigkeit. Dieselbe färbt sich mit Jod weinroth bis purpurroth. Durch Behandeln mit Speichel wird der Körper rasch verändert, so dass die Jodreaction verschwindet, jedoch nicht oder höchstens spurenweise in reducirenden Zucker übergeführt. Durch mehrstündiges Kochen mit verdünnter Schwefelsäure gelingt die Ueberführung in reducirenden Zucker gewöhnlich leicht. Ein in dem Verhalten gegen Jod entsprechender Körper kommt nach Bütschli auch in dem Leibe anderer Protozoën (Nyctotherus ovalis, Strombidium) in ansehnlicher Menge vor.

Von Schmiedeberg[3]) wurde aus der Substanz der Wohnröhren von Onuphis tubicola durch 24stündiges Erhitzen mit Wasser auf 120—130° ein dextrin- oder glycogenartiges Spaltungsprodukt erhalten, welches in Wasser löslich ist, durch Alkohol in Flocken, die sich gummiartig zusammenballen, gefällt und getrocknet leicht als gelbliches Pulver erhalten wird. Diese Substanz reducirt Kupferoxyd nicht in alkalischer Lösung, wohl aber nach dem Kochen mit Säuren, und wird durch Jod nicht gefärbt. Durch Kalilösung wird sie schwer angegriffen.

101. **Dextrine** $(C_6H_{10}O_5)n$. Dextrine nennt man Stoffe, welche bei der Spaltung von Amylum und Glycogen durch diastatische Fermente oder verdünnte Säure in der Hitze als Zwischenglieder auftreten, um weiterhin in Isomaltose (siehe § 97) und Maltose, bezw. wenn die Spaltung durch Säurewirkung erfolgt, in Traubenzucker zu zerfallen. Es sind in Wasser lösliche, in absolutem Alkohol unlösliche Körper, welche in conc. Lösung in Wasser dick gummiartige Beschaffenheit zeigen, beim Erhitzen mit Alkalien sich gelb und braun färben und nicht krystallisiren. Man unterscheidet Amylodextrin (Amidulin, lösliche Stärke), die Gruppe der Erythrodextrine und die Gruppe der Achroodextrine, welche durch fortgesetzte Spaltung aus einander entstehen und auch in ihrem Verhalten Uebergänge zwischen der Stärke (Glycogen) einerseits und dem Zucker andererseits darstellen. Alle drehen rechts u. z. ungefähr $[\alpha]_D = + 195^0$, sie gähren nicht. Amylodextrin reducirt Fehling'sche Lösung nicht, färbt sich mit Jod blau, Erythrodextrine und Achroodextrine reduciren, erstere färben sich mit Jod rothviolett und rothbraun, letztere gar nicht. Mittelst der Jodreaction lassen sich bei gleichzeitiger Anwesenheit von Amylo- und Erythrodextrin beide nebeneinander nachweisen, wenn man sich einer sehr verdünnten Jodjodkalilösung bedient und diese nur tropfenweise zusetzt: es entsteht zunächst Blaufärbung, bei weiterem Zusatz Rothfärbung. Die

---

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. **36.** 383. (1885.)
[2]) Zeitschr. f. Biol. **21.** 603. (1885.)
[3]) Mitthlg. aus der zool. Station zu Neapel. 1882. S. 373.

Trennung geschieht mit Hülfe von Alkohol (Lintner und Düll[1]) oder besser mit Hülfe von Ammonsulfat und anderen Neutralsalzen nach Young.[2])

Nach Scheibler und Mittelmeier[3]) lösen sich die reducirenden Dextrine allmählich in Phenylhydrazin auf und werden durch Alkohol als rein weisses Dextrinphenylhydrazin (mit 1 pCt. Stickstoff) abgeschieden. Diese Verbindung verhält sich gegen Lösungsmittel wie Dextrin und wird durch Speichel und Diastase saccharificirt. Auf dem Wasserbad mit Phenylhydrazin und Essigsäure behandelt, verwandelt sie (resp. Dextrin selbst) sich, wenigstens zum Theil, in Osazon, welches in Wasser löslich ist und durch Alkohol als hellgelbgefärbter Niederschlag erhalten wird. Durch Reduction mit Natriumamalgam entsteht aus dem Dextrin ein Alkohol, von Scheibler und Mittelmeier Dextrit genannt, und durch Einwirkung von Brom in der Kälte eine Säure.

Thierisches Dextran. Unter diesem Namen beschreibt L. Liebermann[4]) einen gummiartigen Körper, den er aus dem wässrigen Auszug der Excremente einer Blattlaus (Schizoneura lanuginosa) durch Fällen mit Alkohol erhielt. Die Substanz, deren Analyse keine scharfen Zahlen gab (am Besten passt sie zu der Formel $C_6H_{10}O_5$) verhält sich ganz wie Gummi, ist in kaltem Wasser schwer löslich, dreht stark rechts $[\alpha]_D = + 156{,}7^0$; nach längerem Kochen mit Säuren reducirt sie alkalische Kupferoxydlösung.

102. **Thierisches Sinistrin $2(C_{12}H_{20}O_{10}) + H_2O$** nennt Hammarsten[5]) ein Kohlehydrat, welches bei der Zersetzung des Glycoproteïds der Eiweissdrüse von Helix pomatia mit 5 bis 10 proc. Kalilauge in der Kälte sich abspaltet und mit Hülfe der Brücke'schen (§ 100) oder Landwehr'schen Methode[6]) isolirt werden kann. Es löst sich leicht in Wasser zu einer schwach bläulichweiss opalescirenden Flüssigkeit, welche linksdrehend ist, durch Jod nicht gefärbt und durch Speichel nicht angegriffen wird. Beim Erhitzen mit Säure wird das Sinistrin in einen süss schmeckenden Zucker übergeführt, welcher Fehling'sche Lösung reducirt, gährungsfähig ist und ziemlich stark rechts dreht; krystallisirt wurde derselbe nicht erhalten.

103. **Cellulose (Tunicin) $(C_6H_{10}O_5)n$.** Im Mantel der Ascidien ist von C. Schmidt[7]) eine Substanz aufgefunden, die gegen starke Säuren und Alkalien sich auch beim Kochen sehr resistent verhält und die Zusammensetzung der Cellulose besitzt. Berthelot[8]), der ihr den Namen Tunicin gab, hielt sie für eine von der Cellulose verschiedene Substanz. Nach den Untersuchungen von Schäfer[9]) u. a., besonders nach den Ergebnissen von Winterstein[10]) ist sie als echte Cellulose anzusehen. Sie ist unlöslich in verdünnten Säuren und Alkalien, löslich in Kupferoxydammoniak, färbt sich mit Jod und Schwefel-

---

1) Ber. d. d. chem. Ges. **26**. 2533 (1893) und **28**. 1522 (1895).
2) Journ. of Physiol. **22**. 401. (1897—1898.)
3) Ber. d. d. chem. Ges. **23**. 3060. (1890.)
4) Arch. f. d. ges. Physiol. **40**. 454. (1887.)
5) Ebendas. **36**. 442. (1885.)
6) Zeitschr. f. physiol. Chem. **8**. 122. (1883—1884.)
7) Ann. Chem. Pharm. **54**. 318. (1845.)
8) Ann. chim. phys. **56**. 149 (1859), Ber. d. d. chem. Ges. **5**. 587. (1872.)
9) Ann. Chem. Pharm. **160**. 312. (1871.)
10) Zeitschr. f. physiol. Chem. **18**. 43. (1894.)

säure oder Chlorzink und Jod blau oder blauviolett, wird von rauchender Salpetersäure in ein Nitroproduct, ähnlich der Schiessbaumwolle, übergeführt und gibt beim Zusammenreiben mit conc. Schwefelsäure, Eintragen der Masse in das 100fache Volumen Wasser und Kochen eine Lösung, aus der sich krystallisirter Traubenzucker gewinnen lässt. Das Verhalten stimmt also vollkommen mit dem der Cellulose überein.

Nach Halliburton[1]) besteht die schleimige Umhüllung, welche die Colonien oder Stöcke des Protozoon Ophrydium versatile umgiebt, aus Cellulose. Ambronn[2]) fand bei fast allen Gliedern der Arthropodengruppe einen Körper, der sich mit Chlorzinkjod intensiv violett färbte und zwar nahmen die innere Schicht des Körpers und die Sehnen diese Färbung an; unter den andern grösseren Thierklassen beobachtete er die Reaction nur noch bei den Mollusken und auch hier nur in wenigen Fällen. Er schliesst aus diesem Verhalten, dass es sich um einen Stoff handelt, welcher der pflanzlichen Cellulose jedenfalls sehr nahe steht, wahrscheinlich mit ihr identisch ist. Die von Freund[3]) u. a. im Blut und in den Organen von Phthisikern gefundene Cellulose ist auf in den Tuberkelbacillen vorhandene Cellulose zu beziehen (Dreyfuss[4]), Nishimura[5]).

104. **Thierisches Gummi.** Unter diesem Namen beschreibt Landwehr[6]) ein Kohlehydrat von der Zusammensetzung $C_6H_{10}O_5$, welches er als Spaltungsproduct aus Submaxillarmucin und Metalbumin erhalten haben will. Weiss, mehlartig, leicht Wasser anziehend und gummiartig werdend, in Wasser zu meist opalescirender Flüssigkeit sich lösend, in Alkohol und Aether unlöslich, durch Jod nicht färbbar, durch diastatische Fermente nicht angreifbar. Seine wässrige Lösung dreht schwach rechts, die alkalische löst Kupferoxyd mit hellblauer Farbe, beim Kochen scheiden sich bläulich weisse Flocken ab (charakteristische Reaction). Mit verdünnter Säure gekocht, liefert es einen nicht krystallisirenden Körper, welcher Fehling'sche Lösung reducirt, schwach süss schmeckt, nicht gährungsfähig ist.

Die von Ritthausen[7]) aus der Milch und die von Schützenberger[8]) aus Abkochungen von Milchdrüsen erhaltenen Kohlehydrate sollen nach Landwehr thierisches Gummi darstellen. Loebisch[9]) erhielt einen Körper von derselben Zusammensetzung und im Wesentlichen denselben Eigenschaften aus dem Sehnenmucin.

Nach neueren Untersuchungen (siehe besonders Folin[10]), Weydemann[11]), Müller[12]), Levene[13]), Leathes[14]) existirt indessen das thierische Gummi von Landwehr nicht, wohl aber sind stickstoffhaltige Körper, die im Allgemeinen die von Landwehr beschriebenen Eigenschaften zeigen, aber unter sich nicht übereinstimmen, aus verschiedenen Glycoproteïden dargestellt, so von Weydemann und Müller aus Mucinen ver-

---

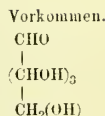
1) Quart. J. Mic. Science. July 1885.
2) Mittheil. a. d. zool. Stat. zu Neapel. **9**. 475. (1890.)
3) Wien. Med. Jahrb. 1886. S. 335.
4) Zeitschr. f. physiol. Chem. **18**. 358. (1894.)
5) Arch. f. Hygiene. **21**. 52. (1894.)
6) Zeitschr. f. physiol. Chem. **8**. 122. (1883—1884.)
Arch. f. d. ges. Physiol. **39**. 193. (1886), **40**. 21. (1887.)
7) Journ. f. prakt. Chem. N. F. **15**. 329. (1877.)
8) Gaz. méd. de Paris. 1879. No. 2.
9) Zeitschr. f. physiol. Chem. **10**. 71. (1886.)
10) Ebendas. **23**. 347. (1897.)
11) Ueber das sog. thierische Gummi u. s. w. Dissert. Marburg. 1896.
12) Zeitschr. f. Biol. **42**. 468. (1901.)
13) Zeitschr. f. physiol. Chem. **31**. 395. (1900—1901.)
14) Arch. f. exp. Path. **43**. 245. (1900.)

schiedener Herkunft und aus Pseudomucin durch Behandeln mit Alkalien, durch Erhitzen mit Wasser im Papin'schen Topf und auch durch peptische und pancreatische Verdauung, von Folin aus Submaxillarmucin durch Erhitzen mit Wasser auf 110°, von Leathes aus Paramucin durch Verdauung mit Pepsinsalzsäure und Isolirung als Kupferkaliverbindung (siehe Paramucosin). Hierher gehört auch das von S. Fränkel[1]) aus ovomucoidfreiem Hühnereiweiss durch Kochen mit Barytwasser abgespaltene Albamin. Unter den Endproducten der hydrolytischen Spaltung dieser Körper ist Chitosamin gefunden.

Ueber das Vorkommen von thierischem Gummi im Harn[2]) siehe die Arbeiten von Baisch[3]) und Lemaire[4]), über sein Vorkommen im Blut die Angaben von Freund[5]).

Kohlehydrate von der Formel $C_5H_{10}O_5$ (Pentosen).

105. Die Pentosen, früher nur als Spaltungsproducte im Pflanzenreich vorkommender Kohlehydrate (bes. Gummiarten) bekannt, sind vor einigen Jahren zuerst von E. Salkowski[6]) in kleinen Mengen in einigen Fällen im menschlichen Harn, dann von Külz und Vogel[7]) sehr häufig im diabetischen Harn, auch im Harn von Hunden nach Pancreasexstirpation oder nach Phloridzingaben gefunden. Sie sind auch als Spaltungsproducte eines im Pancreas enthaltenen Nucleoproteïds[8]), der Guanylsäure und anderer Nucleïnsäuren, z. B. der Hefenucleïnsäure[9]) nachgewiesen. Ferner sind bei der Spaltung von Nucleoproteïden[10]) und Nucleïnsäuren[11]) aus verschiedenen Organen Producte erhalten, welche die Pentosereactionen zeigen. Vorkommen.



Die Pentosen geben die auf Reduction beruhenden Proben des Traubenzuckers, mit Phenylhydrazin charakteristische Verbindungen, gähren nicht mit Hefe und liefern beim Erhitzen mit Salzsäure keine Lävulinsäure, aber reichliche Mengen Furfurol. Sie geben, ebenso wie die Glycuronsäure, folgende beiden Reactionen: Nachweis.

1. Orcin-Salzsäurereaction[12]). Man versetzt die zu untersuchende

---

[1]) Monatsh. f. Chem. **19**. 819. (1898.)
[2]) Landwehr, Centbl. f. d. med. Wiss. 1885. S. 369.
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **19**. 362. (1894.)
[4]) Ebendas. **21**. 451. (1895—1896.)
[5]) Centbl. f. Physiol. 1892. S. 345.
[6]) Centralbl. f. d. med. Wiss. 1892. S. 337 u. 593, besonders Zeitschr. f. physiol. Chem. **27**. 507. (1899.)
[7]) Zeitschr. f. Biol. **32**. 185. (1895.)
[8]) Hammarsten, Zeitschr. f. physiol. Chem. **19**. 28. (1894.)
Bang, Ebendas. **26**. 146. (1898—1899.)
Salkowski, Ebendas. **27**. 535. (1899.)
[9]) Kossel, Arch. f. Anat. u. Phys., physiol. Abthlg. 1893. S. 159.
[10]) Blumenthal, Berl. klin. Woch. 1897. S. 245 und Zeitschr. f. klin. Med. **34**. 166.
[11]) A. Neumann, Arch. f. Anat. u. Physiol., physiol. Abthlg. 1898. S. 377.
[12]) Allen u. Tollens, Ann. Chem. Pharm. **260**. 305. (1890.)
Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. **27**. 514. (1899.)

Flüssigkeit mit dem gleichen Volumen conc. Salzsäure bezw. übergiesst, wenn es sich um eine feste Substanz handelt, eine kleine Probe derselben mit Wasser und dem gleichen Vol. conc. Salzsäure, fügt eine kleine Menge Orcin hinzu und erhitzt. Bei Anwesenheit von Pentosen (oder Glycuronsäure) färbt sich die Flüssigkeit röthlich blau und zeigt einen Absorptionsstreifen zwischen C und D nahe an D. Es entsteht bald eine bläuliche Färbung, deren zunächst rothe, später schön grüne, amylalkoholische Lösung denselben Streifen erkennen lässt.

Bei Anstellung der Probe mit Harn, den man zweckmässig vorher mit Thierkohle entfärbt, ist die röthlichblaue Farbe gar nicht oder nur vorübergehend zu bemerken, es tritt vielmehr sehr bald grünliche Färbung auf. Kühlt man nun, sobald beim Erhitzen Trübung eingetreten ist, bis zur Lauwärme ab und schüttelt alsbald gelinde mit Amylalkohol, so nimmt dieser eine gesättigte grüne Farbe an und zeigt den Spectralstreifen. Normale Harne geben diese Reaction nicht.

2. Phlorogluein-Salzsäurereaction[1]). Man verfährt ebenso wie bei der Orcinprobe, nimmt nur statt des Orcins Phlorogluein. Die Flüssigkeit färbt sich kirschroth und zeigt bei schneller Untersuchung einen Streifen zwischen D und E. Da nach kurzer Zeit Trübung eintritt, ist es zweckmässig die Probe schnell abzukühlen, mit Amylalkohol gelinde zu schütteln und nun die amylalkoholische Lösung, welche den Farbstoff aufgenommen hat, spectroskopisch zu prüfen.

Da normale Harne sehr häufig eine schwache Reaction geben (wahrscheinlich wegen ihres Gehalts an gepaarter Glycuronsäure), so empfiehlt Salkowski zum Nachweis der Pentosurie die Probe mit sehr wenig Harn und in folgender Weise anzustellen: Man löst eine kleine Messerspitze Phloroglucin unter Erwärmen in 7—8 ccm Salzsäure (1,12 spec. Gew.), theilt die Lösung in zwei etwa gleiche Hälften, kühlt durch Einsetzen in kaltes Wasser ab, setzt zu einer Hälfte dann 0,5 ccm des zu prüfenden Harns, zu der andern ebensoviel normalen Harn von nicht zu geringer Concentration und setzt beide Reagensgläser in ein Becherglas, welches bis zum Sieden erhitztes Wasser enthält; in wenigen Augenblicken färbt sich die pentosenhaltige Mischung roth, während die andere so gut wie unverändert bleibt, jedenfalls nicht roth wird. Die sofort nach Eintritt der Rothfärbung event. nach Ausschütteln mit Amylalkohol vorzunehmende Spectraluntersuchung ergiebt den charakteristischen Streifen.

Um den Nachweis der Pentosen in Nucleïnsäuren zu führen, erhitzt man mit Salzsäure bis zum Sieden, fügt Phloroglucin hinzu, schüttelt durch und kühlt sofort ab (A. Neumann).

i-Arabinose $C_5H_{10}O_5$. Von allen im Thierkörper vorkommenden Pentosen ist bisher nur die Harnpentose von Neuberg[2]) isolirt und als i-Arabinose erkannt. Die übrigen haben nur als Osazone mehr oder weniger rein

[1]) Tollens u. Mitarbeiter, Ann. Chem. Pharm. **254**. 333 (1889) u. **260**. 304. (1890.) Ber. d. d. chem. Ges. **29**. 1202. (1896.) Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. **27**. 509. (1899.)

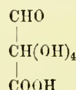
[2]) Ber. d. d. chem Ges. **33**. 2243. (1900.)

erhalten werden können*). Zur Isolirung der von E. Salkowski entdeckten Harnpentose dampft man nach Neuberg**) eine grössere Menge Pentoseharn im Vacuum bei ca. 36° auf ein kleines Volumen ein, entfernt durch Zusatz von viel Alkohol die Hauptmenge der anorganischen Salze, wiederholt mit der alkoholischen Lösung diese Operation, bis schliesslich eine Flüssigkeit erhalten wird, die ausser Pentose nur noch reichliche Mengen von Harnstoff und Kreatinin enthält. Aus dieser Lösung scheidet sich auf Zusatz von Diphenylhydrazin beim Erwärmen ein Krystallbrei aus, der abfiltrirt, mit wenig kaltem Alkohol gewaschen und portionsweise aus viel 50 proc., wässrigem Pyridin unter Zusatz von etwas Thierkohle umkrystallisirt wird. Aus diesem Diphenylhydrazon wird durch Spaltung mittelst Formaldehyd der Zucker regenerirt zunächst als Syrup, der allmählich im Vacuum krystallinisch wird. Durch Umkrystallisiren gereinigt stimmt er in jeder Beziehung mit der synthetisch[1]) dargestellten i-Arabinose überein. Sm.-P. 163—164° (corr.), optisch völlig inactiv, rein süss schmeckend. Das Osazon scheidet sich erst beim Abkühlen ab und schmilzt bei 166—168°, das p-Bromphenylosazon kommt zum grössten Theil erst nach dem Erkalten heraus und schmilzt bei 200—202°. Beide sind auch direkt aus Pentoseharn zu erhalten. Das Diphenylhydrazon $C_{17}H_{20}N_4O_4$ krystallisirt in farblosen Nädelchen, schmilzt bei 206° und ist in kaltem Wasser und Alkohol unlöslich, in Eisessig und Pyridin leicht löslich. Ueber weitere Hydrazinverbindungen siehe Neuberg a. a. O.

---

106. **Glycuronsäure $C_6H_{10}O_7$.** Die einbasische Glycuronsäure wurde in reinem Zustande zuerst von Schmiedeberg und H. Meyer[2]) aus Camphoglycuronsäure, die im Harn nach Eingabe von Campher auftritt, dann von v. Mering[3]) aus Urochloralsäure (Trichloraethylalkoholglycuronsäure) und Urobutylchloralsäure, welche nach Aufnahme von Chloral- resp. Butylchloralhydrat im Harn erscheinen, durch Erhitzen mit verdünnten Säuren gewonnen. In gepaarter Form findet sie sich regelmässig in kleinen Mengen

Vorkommen.



*) Anm. bei der Correctur. In einem am 9. März 1902 gehaltenen Vortrag, der in einem der nächsten Hefte der Ber. d. deutsch. chem. Ges. erscheinen wird, theilt C. Neuberg mit, dass die im Pancreasnucleoproteïd enthaltene Pentose l-Xylose $C_5H_{10}O_5$ ist. Die die Pentose enthaltende möglichst gereinigte hydrolytische Zersetzungsflüssigkeit des Nucleproteïds wurde mit Brom behandelt, die entstandene Monocarbonsäure isolirt und als l-Xylonsäure identificirt, das Brucinsalz der Säure schmilzt bei 171—173°. Auch das aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit dargestellte Phenylosazon erwies sich als identisch mit l-Phenylxylosazon. Eine Lösung von 0,2 g dieser Verbindung in 4 ccm reinem Pyridin und 6 ccm absol. Alkohol dreht in 10 cm langer Schicht bei Natriumlicht —0° 15′.

**) Einzelheiten s. im Original.

[1]) Wohl, Ber. d. d. chem. Ges. **26**. 742. (1893.)

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **3**. 422. (1879.)

[3]) Ebendas. **6**. 480. (1882.)

im normalen Harn (Mayer und Neuberg[1]), in grösseren nach Eingabe einer sehr grossen Anzahl Körper aus der aromatischen und fetten Reihe in den Organismus. Aus den Untersuchungen von Schmiedeberg[2]) geht hervor, dass Glycuronsäure in dem Chondrosin, einem Zersetzungsproduct der Chondroïtinschwefelsäure (siehe diese) enthalten ist. Im freien Zustande ist sie bisher weder im Harn noch in den Geweben gefunden worden.

Darstellung. E. Fischer und Piloty[3]) gelang die synthetische Darstellung der Glycuronsäure durch Reduction der Zuckerlactonsäure mit Natriumamalgam in saurer Lösung. Am Besten eignet sich zur Darstellung der Glycuronsäure die Euxanthinsäure[4]) (Euxanthonglycuronsäure), welche beim einstündigen Erhitzen mit Wasser auf 120° in Euxanthon und Glycuronsäure zerfällt; aus der vom unlöslichen Euxanthon abfiltrirten Flüssigkeit scheiden sich nach entsprechender Concentration grosse, glänzende, harte Krystalle ab, welche das Lacton der Glycuronsäure darstellen.

Eigenschaften. Das Lacton schmilzt, langsam erhitzt, zwischen 160 und 170° unter Zersetzung. Die freie Säure ist syrupförmig; sie bildet gut krystallisirende Alkalisalze, ferner ein ebenfalls krystallisirendes Bleisalz und ein sehr leicht krystallisirendes Cinchoninsalz (schwach gelbe Nadeln), das zur Isolirung der Glycuronsäure dienen kann (Neuberg[5]). Sie wird durch basisches Bleiacetat gefällt, ebenso durch Barytwasser im Ueberschuss: dabei entsteht ein charakteristischer, feinflockiger Niederschlag des basischen Barytsalzes. Die Glycuronsäure gährt nicht mit Hefe. Sie zerlegt sich leicht in alkalischen Lösungen, besonders beim Erwärmen unter Bildung von Brenzcatechin; beim anhaltenden Kochen mit Barytwasser entstehen zwei Säuren, vielleicht Tri- und Dioxyglutarsäure[6]). Sie löst Kupferoxydhydrat in alkalischer Lösung, reducirt es beim Erwärmen und giebt sämmtliche für Glykose charakteristische Reductionsproben. In sauren Lösungen ist sie beständiger. Beim Erhitzen mit Salzsäure liefert sie reichliche Mengen von Furfurol (ungefähr 16 pCt.) (Tollens[7]), sie giebt die Reaction von Molisch (§ 92, 9), die Phloroglucin-Salzsäure- und die Orcin-Salzsäurereaction (§ 105). Bei der Oxydation mit Brom entsteht aus der Glycuronsäure Zuckersäure, bei der Reduction mit Natriumamalgam d-Gulonsäure.

Verbindungen: Beim Erwärmen mit Phenylhydrazin in essigsaurer Lösung entstehen

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **29**. 256. (1900.)
2) Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **28**. 355. (1891.)
3) Ber. d. d. chem. Ges. **24**. 521. (1891.)
4) Spiegel, Ber. d. d. chem. Ges. **15**. 1964. (1882.)
Külz, Zeitschr. f. Biolog. **23**. 475. (1887.)
Thierfelder, Zeitschr. f. physiol. Chemie. **11**. 388 (1887), **13**. 275 (1889), **15**. 71 (1891).
5) Ber. d. d. chem. Ges. **33**. 3315. (1900.)
6) Schmiedeberg a. a. O.
7) Ann. Chem. Pharm. **290**. 157. (1896.)

je nach den Mengenverhältnissen zwischen Glycuronsäure und Phenylhydrazin verschiedene krystallisirende Verbindungen unbekannter Constitution, die für die Erkennung der Glycuronsäure nicht zu verwerthen sind (Thierfelder, P. Mayer[1]). Beim Erwärmen mit salzsaurem p-Bromphenylhydrazin und Natriumacetat liefert sie hellgelbe Nadeln von glycuronsaurem p-Bromphenylhydrazin $C_{12}H_{17}O_7N_2Br$ (Sm.-P. 236°), die sich in heissem Eisessig und 60proc. Alkohol ziemlich leicht lösen. Diese Verbindung unterscheidet sich von den p-Bromphenylosazonen der Kohlehydrate durch ihre völlige Unlöslichkeit in absolutem Alkohol, sie zeigt ferner in einem Gemisch von 4 ccm Pyridin und 6 ccm abs. Alkohol gelöst eine ausserordentlich starke Ablenkung des polarisirten Lichtes ($[\alpha]_D = -369°$), die erheblich grösser ist als die irgend einer andern Hydrazinverbindung der Kohlehydrate, also zur Erkennung der Glycuronsäure sehr geeignet (Neuberg[2]). Beim Schütteln mit Benzoylchlorid und Natronlauge entsteht ein Niederschlag, der aus zweifach benzoylirter Glycuronsäure besteht. Ueber weitere Verbindungen der Glycuronsäure siehe bei Neuberg[3]) und Giemsa[4]).

mit Phenylhydrazin.

mit p-Bromphenylhydrazin.

mit Benzoësäure.

Die Glycuronsäure ist rechtsdrehend und zwar beträgt für 8 bis 14 proc. Lösungen des Lactons $[\alpha]_D^{18°} = +19{,}25°$. Mit der Verdünnung und mit ansteigender Wärme nimmt die specifische Drehung zu.

Optische Eigenschaften.

Zum Nachweis der Glycuronsäure dienen die oben angegebenen Reactionen und Eigenschaften, besonders das starke Drehungsvermögen ihrer p-Bromphenylhydrazinverbindung, sowie die Phloroglucin- und Orcinprobe. Letztere Reactionen hat sie mit den Pentosen gemeinsam.

Nachweis.

Kohlensäure und Kohlensäurederivate.

107. **Kohlensäure CO_2.** Gasförmig tritt Kohlensäure in der Exspirationsluft, den Darmgasen, dem Blute auf. Locker gebunden (durch die Luftpumpe austreibbar), findet sie sich im Blut und allen anderen Flüssigkeiten des thierischen Körpers, festgebunden (an Alkalien) in den alkalisch reagirenden Flüssigkeiten (Blut, seröse Flüssigkeiten, Galle, Secrete). An Kalk oder andere Basen gebunden ist sie im Harn besonders der Pflanzenfresser enthalten, an Kalk gebunden in den Knochen und vielen pathologischen Concrementen. Bei der Verbrennung organischer Stoffe wird sie reichlich gebildet, ebenso bei der Fäulniss, so ist sie z. B. reichlich im faulen Harn vorhanden.

Vorkommen.

Die freie Kohlensäure ist bei gewöhnlicher Temperatur und einem vierzig Atmosphären nicht übersteigenden Drucke ein farbloses Gas von stechendem

Eigenschaften.

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **29.** 59. (1900.)
2) Ber. d. d. chem. Ges. **32.** 2395 u. 3384. (1899.)
3) Ebendas. **33.** 3315. (1900.)
4) Ebendas. **33.** 2996. (1900.)

Geruche und Geschmacke. Sie ist nicht weiter oxydirbar, also auch nicht brennbar. Bei 0° und 760 mm Druck absorbirt Wasser sein anderthalbfaches, bei 10 bis 12° etwa sein einfaches Volumen Kohlensäure. Sie ist eine sehr schwache, zweibasische Säure, welche feuchtes, blaues Lacmuspapier röthet, auch Kohlensäure enthaltendes Wasser färbt Lacmuspapier roth, die rothe Farbe verliert sich aber bald beim Liegen des Papiers an der Luft.

Salze. Die neutralen kohlensauren Alkalien krystallisiren, sind löslich in Wasser, ihre Lösungen reagiren stark alkalisch. In Alkohol sind diese Salze unlöslich. Sie zerlegen sich nicht bei mässigem Glühen. Die neutralen kohlensauren Erden sind in kohlensäurefreiem Wasser fast ganz unlöslich, in viel kohlensäurehaltigem Wasser lösen sie sich dagegen auf. Kohlensaurer Kalk zerfällt beim starken Glühen in Calciumoxyd und Kohlensäure. Die sauren kohlensauren Alkalien sind gut krystallisirbar, werden jedoch leicht beim Erhitzen auf 100°, auch selbst beim Stehen in einer Luft, die weniger als 1 pCt. Kohlensäure bei gewöhnlichem Luftdrucke enthält, in neutrales Salz, Kohlensäure und Wasser zerlegt. Wird zu einer Lösung eines neutralen kohlensauren Alkalis allmählich eine ungenügende Menge einer Säure zugefügt, so verbindet sich diese mit der äquivalenten Menge des Alkalis und die freigewordene Kohlensäure wandelt eine entsprechende Menge des noch übrigen kohlensauren Salzes in das saure Salz um. Wird dagegen schnell eine starke Säure hinzugefügt, so zerfällt durch die Erhitzung das saure kohlensaure Salz und es entweicht Kohlensäure unter Aufbrausen.

Nachweis. Zum Nachweis der Carbonate dient hauptsächlich das Aufbrausen, welches sich einstellt, wenn sie selbst oder ihre wässrigen Lösungen mit einer starken Säure (verdünnter Schwefelsäure) im Ueberschusse versetzt werden; Erwärmen beschleunigt die Entwickelung des Gases, welches nur langsam völlig entweicht. Die freie oder aus Salzen frei gemachte gasförmige Kohlensäure kann an der schwachen Röthung von feuchtem Lacmuspapier, dem Geruch und der in klar filtrirtem Kalk- oder Barytwasser durch das überfliessende Gas erzeugten weissen Trübung erkannt werden. Um in Flüssigkeiten gelöste Kohlensäure nachzuweisen, bringt man dieselben am Besten in einen Kolben mit doppelt durchbohrtem Kork. In der einen Bohrung steckt ein bis auf den Boden des Kolbens reichendes, in der anderen ein kurzes unter dem Stopfen abschneidendes Glasrohr. Ersteres ist mit einem Kalilauge enthaltenden, letzteres mit einem klares Kalk- oder Barytwasser enthaltenden Kugelapparat verbunden. Saugt man nun mittelst eines Aspirators athmosphärische Luft durch die drei miteinander verbundenen Gefässe, so wird, falls die Flüssigkeit Kohlensäure enthält, im Kalk- oder Barytwasser Trübung oder Niederschlag durch Bildung von Calcium- oder Bariumcarbonat entstehen. Erwärmen der zu prüfenden Flüssigkeit im Kolben beschleunigt das Entweichen von Kohlensäure.

108. **Carbaminsäure** CH_3NO_2 ist von Drechsel[1]) im Blut nachgewiesen, sie findet sich auch im alkalischen Pferdeharn (Drechsel[2]) und, wenn auch nicht regelmässig, im sauren Pferdeharn, sowie im normalen Menschen- und Hundeharn, in reichlicher Menge im Hundeharn nach Anlegung der Eck'schen Fistel (Hahn und Nencki[3]). Abel und Muirhead[4]) fanden sie im Hunde- und Menschenharn nach Eingabe von Kalkmilch vermehrt. Ferner ist ihre Bildung bei der Einwirkung von übermangansaurem Kali auf verschiedene stickstoffhaltige organische Körper z. B. Eiweissstoffe erkannt worden. Vorkommen. $OC\langle^{NH_2}_{OH}$

Carbaminsäure ist in freiem Zustande nicht bekannt. Ihr Ammoniaksalz entsteht durch Einwirkung von trocknem Ammoniak auf trockne Kohlensäure. Carbaminsaurer Kalk wird dargestellt durch Einleiten von Kohlensäure in starkes wässeriges Ammoniak und Zusatz von Kalkmilch in kleinen Portionen, bis man auch bei heftigem Schütteln keine weitere Lösung mehr wahrnimmt, sondern eine Ausscheidung von Krystallen beginnt. Man lässt dann etwas absitzen, filtrirt direct in das etwa gleiche Volumen auf 0° abgekühlten, absoluten Alkohol. Sofort entsteht dabei ein dicker, amorpher Niederschlag, der nach einiger Zeit krystallinisch wird. Man bringt ihn dann in eine weite Glasröhre, in der sich ein Filter von Glaswolle und Quarzsand befindet, wäscht einmal mit einer Mischung von gleichen Volumina Alkohol und starker Ammoniaklösung, dann mit absolutem Alkohol, endlich mit absolutem Aether und trocknet zuletzt durch einen durchgeleiteten starken, trocknen Luftstrom. Das erhaltene krystallinische Pulver besteht aus meist mikroskopischen flachen Prismen, dem Gyps ähnlich. Auch carbaminsaures Kalium und Natrium sind von Drechsel dargestellt worden. Darstellung.

Aus dem Harn ist die Carbaminsäure als Kalksalz isolirt nach einem dem eben beschriebenen sich anschliessenden Verfahren (Schütteln des Harns mit Kalkmilch u. s. w.), aber nicht in reinem Zustand. Indessen hat Nolf[5]) festgestellt, dass man aus Lösungen von neutralem und saurem Ammoniumcarbonat, aus Gemischen von Ammoniumchlorid und Natriumcarbonat und aus wässrigen Lösungen von Ammoniumchlorid und freier Kohlensäure nach dem gleichen Verfahren carbaminsauren Kalk in erheblicher Menge erhalten kann, u. z. auch aus sehr verdünnten Lösungen, deren Procentgehalt an Kohlensäure und Ammoniak den physiologischen Verhältnissen entspricht. Darnach ist eine specielle physiologische Herkunft der Carbaminsäure fraglich, ihre Bildung vielmehr durch die allgemeinen Gesetze der Gleichgewichtszustände zu erklären. Isolirung.

---

[1]) Journ. f. prakt. Chem. N. F. **16**. 180. (1877.)
[2]) Arch. f. Anat. u. Physiol. physiol. Abthlg. 1891. S. 236.
[3]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **32**. 185. (1893.)
[4]) Ebendas. **31**. 15. (1893.)
[5]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **23**. 505. (1897.)

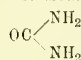
Eigenschaften der Salze.

Carbaminsaures Ammoniak bildet eine weisse Krystallmasse, welche in Wasser leicht löslich ist, sich aber in dieser Lösung bald unter Wasseraufnahme theilweise in kohlensaures Ammoniak umwandelt. Carbaminsaurer Kalk hat die Zusammensetzung $2(NH_2COO)_2Ca + H_2O$. Beim Erhitzen zersetzt sich das Salz mit seinem Krystallwasser in Calciumcarbonat und carbaminsaures Ammoniak, während die Hälfte des carbaminsauren Kalks trocken übrig bleibt und beim weiteren Erhitzen erst in der Glühhitze in Calciumcyanamid, Wasser und Kohlensäure zerlegt wird $(NH_2COO)_2Ca = CN_2Ca + 2H_2O + CO_2$. Durch Säuren wird carbaminsaurer Kalk unter Aufbrausen schnell zersetzt. In Wasser löst sich das Calciumsalz klar auf, aber schon nach einer halben Minute erfolgt Trübung und es scheidet sich allmählich Calciumcarbonat aus. Ammoniakalische Lösung des Salzes erhält sich um so länger unzersetzt, je concentrirter die Ammoniaklösung ist. Aus einer gesättigten Lösung in warmem Ammoniak scheidet sich beim Erkalten das Salz in schönen, vierseitigen Prismen ab. Lässt man verdünnte Lösungen ruhig in der Kälte krystallisiren, so entstehen neben sternförmigen Conglomeraten regelmässige Kreuzformen, die aus einer Zusammensetzung von Prismen und Blättchen bestehen und leicht in amorphes Calciumcarbonat übergehen. Dieses charakteristische Verhalten des carbaminsauren Kalkes setzt allerdings die grösste Reinheit der Lösung voraus (Nolf). Die carbaminsauren Alkalien liefern trocken erhitzt cyansaures Alkali und Wasser $NH_2COONa = CNONa + H_2O$; dieselbe Umwandlung erleidet auch die Calciumverbindung, doch wird sie in der Glühitze weiter zu $CN_2Ca + CO_2$ zerlegt.

Nachweis.

Der Nachweis der Carbaminsäure gründet sich im Wesentlichen auf die Eigenschaften des Calciumsalzes. Vergl. indessen das oben Gesagte.

Vorkommen.



109. **Harnstoff CH_4N_2O.** Der Harnstoff ist ein stets vorhandener Bestandtheil der Harne von Menschen, Säugethieren und nackten Amphibien. Im normalen Blute von Säugethieren, in Transsudaten, Lymphe, im Humor aqueus, Glaskörper, in der Milch, den Muskeln[1]), im Gehirn und in anderen Organen und Flüssigkeiten findet er sich in kleinen Mengen oder in Spuren und häuft sich bei gehinderter Ausscheidung durch die Nieren in diesen Flüssigkeiten und Geweben an. Bei den Selachiern kommt er sehr reichlich in Blut, Galle und Organen vor. Er entsteht bei der Spaltung von Purinkörpern, Kreatin, Arginin u. v. a.

Darstellung.

Der Harnstoff wird künstlich dargestellt, indem man eine wässrige Lösung von cyansaurem Kali, welches durch Zusammenschmelzen von Cyankalium und Bleioxyd erhalten wird, mit schwefelsaurem Ammoniak versetzt, zur Trockne abdampft, den Rückstand mit absolutem Alkohol auszieht, filtrirt, zum Syrup abdampft und krystallisiren lässt. J. Williams[2]) em-

---

[1]) Schöndorff, Arch. f. d. ges. Phys. **74.** 346. (1899.)

[2]) Chem. Centralbl. 1868. No. 36.

pfiehlt zunächst cyansaures Blei darzustellen, und dies mit schwefelsaurem Ammoniak zu zerlegen.

Zur Darstellung von Harnstoff aus Hunde- resp. Menschenharn dampft man den Urin zunächst auf freiem Feuer, dann auf dem Wasserbade zum Syrup ein, zieht letzteren mit Alkohol aus und verdunstet das alkoholische Filtrat auf dem Wasserbade zum Syrup. Aus dem Hundeharn scheidet sich alsbald der Harnstoff in Krystallen ab, welche durch Waschen mit wenig Alkohol und Auspressen von den Extractivstoffen befreit werden können. Handelt es sich um Menschenharn, so fällt man den erkalteten Syrup durch Salpetersäure (eine Mischung gleicher Theile conc. Salpetersäure und Wasser) in mässigem Ueberschuss, saugt den Niederschlag ab, wäscht mit verdünnter Salpetersäure aus, zertheilt ihn in nicht zuviel Wasser und fügt Bariumcarbonat hinzu, so lange Aufbrausen erfolgt. Jetzt dampft man auf dem Wasserbade zur Trockne, zieht den Rückstand mit absolutem Alkohol aus, filtrirt und verdunstet das Filtrat zum Syrup. Der beim Stehen auskrystallisirende Harnstoff wird durch Umkrystallisiren aus Wasser unter Zusatz von Thierkohle gereinigt. Darstellung aus Harn.

Um sehr geringe Mengen von Harnstoff aus Flüssigkeiten wie Blut, Galle, Milch oder aus Organen zu isoliren und möglichst quantitativ zu bestimmen verfährt man in folgender Weise: Die nöthigenfalls bei mässiger Wärme etwas eingeengte Flüssigkeit oder das zu untersuchende, frische, schnell zerkleinerte Organ oder frisches Blut werden mit dem drei bis vierfachen Volumen starken Alkohols gut gemischt und 24 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen. Dann filtrirt man ab, wäscht den Rückstand mehrmals mit Alkohol, engt die vereinigten Filtrate zur Entfernung der Hauptmenge des Alkohols bei mässiger Temperatur (ungefähr 50°) ein, säuert nach dem Erkalten mit Essigsäure stark an, fügt Chloroform hinzu, schüttelt gut und trennt im Scheidetrichter beide Flüssigkeiten. Die Chloroformlösung wird mit Wasser gewaschen und die Waschflüssigkeit mit der übrigen alkoholisch-wässerigen Lösung vereinigt. (Durch das Chloroform werden das den Filtrationen sehr hinderliche Lecithin, ferner Seifen, Fette und Cholesterin aufgenommen und entfernt.) Die wässrig-alkoholische Lösung wird nun durch Abdampfen bei mässiger Wärme von Alkohol befreit, mit Schwefelsäure nach dem Erkalten stark sauer gemacht und zur Entfernung von Pepton, Kreatinin und etwa vorhandenen Basen mit Phosphorwolframsäure gefällt, so lange ein Niederschlag entsteht. Den Niederschlag wäscht man einige Male mit schwefelsäurehaltigem Wasser, übersättigt die vereinigten Filtrate mit Barytwasser, entfernt den Ueberschuss durch Einleiten von Kohlensäure, filtrirt, dampft auf kleineres Volumen bei mässiger Wärme ein und scheidet nun den Harnstoff mit salpetersaurem Quecksilberoxyd ab in der Weise der Harnstofftitrirung (siehe „Untersuchung des Harns“), indem aber statt Natriumcarbonat zum Sättigen der freiwerdenden Salpetersäure Barytwasser dient und die Flüssigkeit bis zum Ende schwach Isolirung.

sauer erhalten wird. Schliesslich wird mit ein paar Tropfen Barytwasser fast neutralisirt, aber nicht alkalisch gemacht, der Niederschlag abfiltrirt, einige Male mit kleinen Mengen Wasser gewaschen, mit dem Filter in etwas Wasser zertheilt und mit Schwefelwasserstoff das Quecksilber abgetrennt. Die Lösung soll jetzt ausser vielleicht etwas salpetersaurem Baryt nur salpetersauren Harnstoff enthalten. Sie wird zur Austreibung des Schwefelwasserstoffs auf dem Wasserbade erwärmt und nach Zusatz von Bariumcarbonat bei mässiger Wärme zur Trockne verdampft, der Rückstand mit absolutem Alkohol extrahirt und filtrirt. Um kleine Mengen von salpetersaurem Baryt, der sich möglicherweise im Alkohol gelöst hat, zu entfernen, fügt man das gleiche Vol. Essigäther hinzu, filtrirt vom Niederschlag ab und verdunstet zur Trockne. Wiederholt man diese Operation (Lösen in Alkohol und Fällen mit Essigäther) mehrmals, so ist der salpetersaure Baryt völlig entfernt und beim Verdunsten krystallisirt Harnstoff aus. Aus Blut erhält man auf diese Weise schöne Krystalle, deren Menge durch die Wage direkt ermittelt werden kann; der aus Organen gewonnene Harnstoff ist meist nicht völlig von syrupösen Beimengungen zu trennen.

In diesem Falle empfiehlt Gottlieb[1]), die Masse in wenig Alkohol zu lösen, ätherische Oxalsäurelösung in einer etwas grösseren Menge, als zur Ausfällung nöthig ist, hinzuzufügen, die Flüssigkeit zu verdunsten, den Rückstand auf dem Filter mit alkohol- und wasserfreiem Aether zur Entfernung der überschüssigen Oxalsäure auszuwaschen, ihn dann in Wasser zu lösen und in der wässerigen Lösung die an Harnstoff gebundene Oxalsäure durch Titration mit $^{n}/_{20}$ Barytlösung zu ermitteln. 1 ccm dieser Barytlösung entspricht 3 mg Harnstoff. Da der oxalsaure Harnstoff in Aether etwas löslich ist, so ist dem erhaltenen Harnstoffwerth für je 10 ccm Waschäther 0,1 mg zuzuaddiren.

Eigenschaften. Der Harnstoff bildet meist sehr dünne, lange, vierseitige, oft innen hohle Prismen mit sehr stumpfer Pyramide an den Enden, von der gewöhnlich nur eine oder zwei Flächen gut ausgebildet sind. Die Krystalle gehören dem tetragonalen Systeme zu. Sie sind wasserfrei, nicht hygroskopisch und können ohne Zersetzung auf 120° erhitzt werden; steigert man die Temperatur noch höher, so schmelzen sie und zersetzen sich unter Entwickelung von Ammoniak. Sm.-P. 132°. In heissem Wasser löst sich der Harnstoff in jedem Verhältnisse. Ein Gewichtstheil Harnstoff löst sich in einem Gewichtstheile kalten Wassers oder siedenden Alkohols, nur in fünf Theilen kalten Alkohols; in Aether ist er unlöslich, entzieht aber demselben Wasser, wenn er wasserhaltig war, und zerfliesst damit. Durch Phosphorwolframsäure werden verdünnte Harnstofflösungen nicht gefällt.

110. Verbindungen des Harnstoffs. Der Harnstoff vereinigt sich mit vielen Säuren, einigen Metalloxyden z. B. Quecksilberoxyd, einer Reihe von Salzen und organischen Substanzen zu meist krystallisirenden Verbindungen.

---

[1]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **42.** 238. (1899.)

Salpetersaurer Harnstoff entsteht beim Versetzen einer mindestens 10 proc. abgekühlten, wässrigen Harnstofflösung mit überschüssiger conc. Salpetersäure als blättrig krystallinischer Niederschlag; bei schneller Ausscheidung bildet er mikroskopische, meist sehr dünne rhombische oder sechsseitige Tafeln, die in der Regel mehrfach zusammengehäuft erscheinen. Grosse und dicke Krystalle erhält man, wenn man Salpetersäure-Aethyläther durch Destillation von Alkohol mit starker Salpetersäure und Harnstoff darstellt und den Rückstand, welcher in der Retorte bleibt, aus Wasser umkrystallisirt. Er bildet dann dickere, bis 1,3 cm breite, sechsseitige Tafeln oder Säulen des rhombischen Systems. Die rhombischen Tafeln zeigen einen Kantenwinkel von 82°. Das Nitrat ist schwer löslich in kalter Salpetersäure, leichter löslich in kaltem, viel leichter in heissem Wasser, wenig löslich in Alkohol, unlöslich in Aether; schnell erhitzt verpufft es ohne Rückstand, allmählich auf 140° erwärmt zerlegt es sich in salpetersaures Ammoniak, Harnstoff, Stickoxydul, Kohlensäure, ebenso allmählich beim Kochen der wässerigen, stark sauer reagirenden Lösung. Verbindungen mit Säuren: mit Salpetersäure. $CO(NH_2)_2 . HNO_3$.

Oxalsauren Harnstoff erhält man durch Fällung einer conc. Harnstofflösung mit Oxalsäure. Er bildet rhombische Tafeln, die leichter gross und dick zu erhalten sind als die Krystalle des salpetersauren Salzes. Der oxalsaure Harnstoff ist löslich in kaltem Wasser (1 Theil in 23 Theilen), schwerer in kaltem Alkohol (1 Theil in 62 Theilen 90 proc. Alkohol), leicht löslich in kochendem Wasser, fast ganz unlöslich in reinem Aether. mit Oxalsäure. $2\,CO(NH_2)_2 . C_2H_2O_4$.

Phosphorsaurer Harnstoff ist von J. Lehmann in grossen, glänzenden Krystallen des rhombischen Systems aus Phosphorsäure und Harnstoff dargestellt und auch aus dem abgedampften Harne mit Kleie gefütterter Schweine erhalten worden. Die Krystalle sind in Wasser sehr leicht löslich, aber nicht zerfliesslich. mit Phosphorsäure. $CO(NH_2)_2 . H_3PO_4$.

Phosphorwolframsaurer Harnstoff bildet meist nadelförmige in Wasser und Alkohol leichtlösliche Krystalle, die sich aus einer 5 proc. Harnstofflösung auf Zusatz von Salzsäure und Phosphorwolframsäure sofort, aus einer 3—4 proc. allmählich abscheiden (Mörner u. Sjöquist[1]). mit Phosphorwolframsäure.

Harnstoff-Chlornatrium bildet rhombische Tafeln oder Prismen, die sich häufig nach dem Abdampfen von Harn zum Syrup beim Stehenlassen abscheiden; auch mit anderen Alkalisalzen krystallisirt Harnstoff gern aus Lösungen, die beide enthalten. Beim Umkrystallisiren zerfallen diese Verbindungen leicht. Verbindungen mit Salzen: mit Chlornatrium. $CO(NH_2)_2 . NaCl + H_2O$.

Harnstoff-Palladiumchlorür ist ein bräunlich gelber, krystallinischer Niederschlag, den säurefreie Palladiumchlorürlösung in Harnstofflösung erzeugt. Unlöslich in Alkohol, schwer löslich in Wasser (Drechsel[2]). mit Palladiumchlorür. $2\,CO(NH_2)_2 . PdCl_2$.

Durch Mischung einer wässrigen Lösung von Harnstoff mit salpetersaurem Quecksilberoxyd kann man drei verschiedene Verbindungen darstellen, in denen Harnstoff und Salpetersäure mit Quecksilbernitrat.

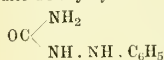
---

[1]) Skand. Arch. f. Phys. **2**. 466. (1891.)

[2]) Journ. f. prakt. Chem. N. F. **20**. 469. (1879.)

stets zu gleichen Molecülen mit verschiedenen Mengen Quecksilberoxyd verbunden sind. Liebig hat diesen drei Verbindungen Formeln gegeben, nach denen die eine Verbindung 4, die zweite 3, die dritte nur 2 Aequivalente Quecksilber auf 1 Aequivalent Harnstoff enthält. Nach Liebig erhält man das 4 Aequivalente Quecksilber enthaltende Salz $2\,CO(NH_2)_2 . Hg(NO_3)_2 . 3\,HgO$ durch Hinzufügen überschüssiger, sehr verdünnter Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxyd zur gleichfalls verdünnten Harnstofflösung als körniges Pulver, welches aus radial gestellten Nadeln besteht. Auf der Bildung dieses Niederschlages beruht das Liebig'sche Verfahren der Harnstofftitrirung. Die 3 Aequivalente Quecksilber enthaltende Verbindung $2\,CO(NH_2)_2 . Hg(NO_3)_2 . 2\,HgO$ erhält man durch Fällung einer Harnstofflösung mit verdünnter Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxyd, indem man die letztere so lange hinzufügt, als sich noch ein Niederschlag bildet. Lässt man den Niederschlag an einem 40 bis 50° warmen Orte stehen, so verwandelt er sich grösstentheils in sechsseitige Tafeln. Die Verbindung, welche zwei Aequivalente Quecksilber enthält $2\,CO(NH_2)_2 . Hg(NO_3)_2 . HgO$, scheidet sich in krystallinischen Krusten von kleinen, rechtwinkligen, zusammengehäuften Tafeln ab, wenn man eine Harnstofflösung mit einer Lösung von salpetersaurem Quecksilber bis zur beginnenden Trübung versetzt, abfiltrirt und das Filtrat stehen lässt. Alle drei Verbindungen sind weisse Niederschläge, die in Wasser zertheilt durch einen anhaltenden Strom Schwefelwasserstoffgas in Schwefelquecksilber und salpetersauren Harnstoff zerlegt werden. Durch Verdunstenlassen der abfiltrirten Lösung kann man dies letztere Salz erhalten.

Verbindungen mit organischen Substanzen: mit Phenylhydrazin.

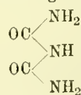


Phenylsemicarbazid scheidet sich in Form weisser, in heissem Alkohol und heissem Wasser leicht löslicher Tafeln oder Blättchen ab, wenn man eine nicht zu verdünnte (bis 2 proc.) Harnstofflösung mit Phenylhydrazin und Essigsäure einige Stunden auf dem Wasserbad erwärmt (Jaffé[1]). Harnstoff verbindet sich in wässriger Lösung bei Gegenwart

mit Zuckern.

von Schwefelsäure mit Traubenzucker und anderen reducirenden Zuckern mit Ausnahme der Fructose unter Wasseraustritt zu krystallisirenden Ureïden. Ueber Traubenzuckerureïd $C_6H_{12}O_5 . NCO . NH_2$ siehe § 91.

Zersetzungen.



Zersetzungen des Harnstoffs. Trocken erhitzt schmilzt der Harnstoff und liefert Biuret und Ammoniak $2\,CON_2H_4 = C_2H_5N_3O_2 + NH_3$, dann Cyanursäure; feucht erhitzt schmilzt er und zerlegt sich hauptsächlich zu Kohlensäure und Ammoniak. Wässerige Lösungen können bei 60 bis 75° ohne merklichen Verlust eingedampft werden, beim Kochen geht ein kleiner Theil in cyansaures Ammoniak und weiter in kohlensaures Ammoniak über. Vollständig ist diese Umwandlung in kohlensaures Ammoniak beim Erhitzen einer wässerigen Lösung im zugeschmolzenen Rohr auf 180°, bei $4\frac{1}{2}$stündigem Erhitzen von 15 ccm einer 0,2 proc. wässerigen Lösung

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **22**. 532. (1896—1897.)

mit 10 g kryst. Phosphorsäure auf 150° (Schöndorff[1]), beim Erhitzen mit Alkalien u. z. genügt nach Schöndorff ein $4^1/_2$ stündiges Erhitzen mit einer alkalischen Chlorbariumlösung im zugeschmolzenen Rohr auf 150°. Spaltpilze, wie sie sich z. B. im faulen Harn, im Harn bei Blasenkatarrh finden, zersetzen den Harnstoff in derselben Weise (ammoniakalische Harngährung). Kalkmilch wirkt beim Kochen nicht stark, in der Kälte gar nicht auf den Harnstoff ein. In conc. Lösung mit salpetersaurem Silber versetzt und stark eingedampft zersetzt sich Harnstoff unter Bildung von cyansaurem Silber und salpetersaurem Ammoniak. Durch salpetrige Säure wird Harnstoff in Kohlensäure, Wasser und Stickstoff ($CON_2H_4 + N_2O_3 = CO_2 + 2\,N_2 + 2\,H_2O$) zersetzt, durch feuchtes Chlorgas sowie durch Lösungen unterchlorigsaurer oder unterbromigsaurer Salze in Kohlensäure, Chlor- bezw. Bromwasserstoff und Stickstoff ($CON_2H_4 + 3\,NaBrO = CO_2 + N_2 + 3\,NaBr + 2\,H_2O$). Auf dieser Reaction beruht die Harnstoffbestimmung nach Knoop-Hüfner.

111. Zum Nachweis können folgende Proben dienen:

1. Beim Versetzen eines Krystalls Harnstoff oder eines Tropfens hinreichend concentrirter Lösung desselben auf dem Objectträger mit ein oder zwei Tropfen mässig verdünnter Salpetersäure entstehen die rhombischen oder sechsseitigen Krystalltafeln des salpetersauren Harnstoffs. Nachweis.

2. Versetzt man eine Lösung von Natriumnitrit mit einigen Tropfen Schwefelsäure bei Gegenwart von Harnstoff, so entwickeln sich farblose Gase (Stickstoff und Kohlensäure), während bei Abwesenheit von Harnstoff gelbbraune Nitrosodämpfe entstehen.

3. Erhitzt man trockene Harnstoffkrystalle im trockenen Probirrohr über kleiner Flamme vorsichtig zum Schmelzen und weiter, bis die Masse wieder fest wird, so entsteht Biuret, welches nach dem Erkalten mit etwas Natronlauge und einer Spur Kupfersulfatlösung Rothviolettfärbung der Lösung bewirkt.

4. Fügt man zu einem Harnstoffkrystall einen Tropfen fast gesättigter wässeriger Lösung von Furfurol und dann sogleich einen Tropfen Salzsäure von ungefähr 1,1 spec. Gew., so entsteht Farbenänderung von Gelb in Grün, Blau, Violett bis prachtvoll Purpurroth. Ein Tropfen einer 1 proc. Harnstofflösung mit $^1/_2$ ccm Furfurolwasser und drei Tropfen Salzsäure giebt nach fünf Minuten noch intensive Färbung. Im Harne ist die Färbung nicht rein. Allantoïn giebt die gleiche Reaction, aber weniger intensiv und langsamer[2]).

5. Eine alkoholische Harnstofflösung wird mit einer hinreichenden Menge einer alkoholischen Lösung von o-Nitrobenzaldehyd auf dem Wasserbad zur Trockne verdunstet, der Rückstand mit Alkohol übergossen,

---

1) Arch. f. d. ges. Phys. **62**. 1. (1896.)

2) Schiff, Ber. d. d. chem Ges. **10**. 773. (1877.)

kurze Zeit erwärmt, der Alkohol abgegossen und dies so oft (zwei bis dreimal) wiederholt, bis alle in Alkohol löslichen Stoffe incl. des überschüssig zugesetzten Nitrobenzaldehyds entfernt sind d. h. bis der abgegossene Alkohol keine Farbenreaction mit Phenylhydrazin mehr zeigt. Es hinterbleibt das Condensationsprodukt — o-Nitrobenzylidendiureïd — als weisslicher, pulveriger Körper, fest an den Wandungen der Schale haftend. Uebergiesst man diesen Rückstand mit wenig verdünnter Lösung von salzsaurem Phenylhydrazin und fünf bis zehn Tropfen einer 10 proc. Schwefelsäure und erhitzt zum Sieden, so färbt sich die Flüssigkeit sogleich roth durch Bildung des o-Nitrobenzaldehydphenylhydrazons[1]).

Vorkommen. $OC\langle^{NH_2}_{NH-CO-COOH}$

112. **Oxalursäure** $C_3H_4N_2O_4$. Oxalursaures Ammoniak ist von Schunk[2]) und später von Neubauer[3]) als Bestandtheil des normalen menschlichen Harns erkannt worden.

Darstellung. Oxalursaures Ammoniak wird erhalten durch Lösen von Harnsäure in warmer sehr verdünnter Salpetersäure, Uebersättigen nach dem Erkalten mit Ammoniak und Eindampfen zur Krystallisation, ferner durch Kochen einer wässerigen Lösung von Parabansäure mit Ammoniak.

Isolirung aus Harn. Zu seiner Gewinnung aus Harn lässt man denselben auf gekörnte Thierkohle, wie sie in den Zuckerfabriken angewendet wird, auftropfen. Diese Thierkohle befindet sich in einer pipettenartig geformten, unten ausgezogenen Glasröhre und ist überdeckt mit einem Stück Leinwand, welches Epithelien, Schleim u. s. w. zurückhält und öfter gewechselt wird. Durch einen Quetschhahn regulirt man das Auftropfen in der Weise, dass in 24 Stunden etwa 20 Liter Harn die Kohle passiren. Hört die entfärbende Kraft der Kohle auf, so füllt man die Pipette mit neuer Kohle. Die Kohle wird dann mit destillirtem Wasser gewaschen, bis das Filtrat weder Chlor noch Phosphorsäure mehr enthält, an der Luft getrocknet und nun mit Alkohol ausgekocht, bis dieser sich nicht mehr gelb färbt. Von den alkoholischen Filtraten wird der grösste Theil des Alkohols abdestillirt und der Rest in einer Porzellanschale auf dem Wasserbade verdampft. Der zurückbleibende Syrup wird mit Wasser behandelt, filtrirt, das Filtrat zum Syrup verdunstet und dieser zur Krystallisation stehen gelassen. Zweckmässig ist es, die Dialyse zur Reinigung zu benutzen, das Diffusat einzudampfen, die sich abscheidenden Krystalle von oxalursaurem Ammoniak mit abs. Alkohol abzuspülen und aus heissem Wasser mit sehr wenig reiner Thierkohle umzukrystallisiren. Aus 100 bis 150 Liter Urin erhielt Neubauer hinreichende Quantität, um die charakteristischen Eigenschaften des oxalursauren Ammoniaks an der Substanz zu prüfen; die Ausbeute ist also sehr gering.

Eigenschaften. Oxalursaures Ammoniak krystallisirt in seideglänzenden Nadeln. Das unreine Salz bildet kleine Krystallbüschel oder kugelige Aggregate, an der Oberfläche mit feinen Krystallnadeln besetzt. Es ist in Wasser sehr schwer löslich, die heisse Lösung giebt mit salpetersaurem Silber einen nach dem Erkalten in seideglänzenden Nadeln sich ausscheidenden Niederschlag von oxalursaurem Silber, der in heissem Wasser oder Ammoniak löslich ist, ferner mit verdünnter Salpetersäure einen feinpulverigen krystallinischen Niederschlag von Oxalursäure. Versetzt man eine concentrirte Lösung von oxalursaurem Ammoniak mit Chlorcalcium oder Chlorzink, so scheiden sich beim längeren Stehen

---

[1]) Lüdy, Monatsh. f. Chem. **10**. 310. (1889.)

[2]) Proceed. of the royal soc. **16**. 140. (1866.)

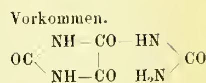
[3]) Zeitschr. f. analyt. Chem. **7**. 225. (1868.)

die Salze dieser Basen in charakteristischen, mikroskopischen Krystallen aus; desgleichen ruft essigsaures Blei nach kurzer Zeit Trübung und pulverig krystallinischen Niederschlag von oxalursaurem Blei hervor. Wird eine Lösung von oxalursaurem Ammoniak mit Chlorcalcium und Ammoniak erwärmt, so scheidet sich, schon ehe die Siedehitze erreicht ist, bei genügender Verdünnung der Lösung oxalsaurer Kalk in schönen mikroskopischen Octaëdern aus. Wird die Oxalursäure mit verdünnter Säure gekocht, so spaltet sie sich in Harnstoff und Oxalsäure.

Der Ansicht von Schunk, dass die allmählich sich abscheidenden oxalsauren Kalksedimente im Harne ihre Entstehung der Zerspaltung von oxalursaurem Ammoniak verdanken, trat Neubauer entgegen, weil er fand, dass letzteres Salz im Harne lange Zeit unverändert bestehen kann, bei der alkalischen Gährung aber die Oxalursäure verschwindet, ohne dass Oxalsäure nachzuweisen ist.

Zum Nachweise dienen die obige von Neubauer beschriebene Darstellungsmethode aus dem Harne sowie die genannten Reactionen. Nachweis.

113. Allantoïn $C_4H_6N_4O_3$. Das Allantoïn wurde zuerst in der Allantoïsflüssigkeit des Kalbes, später auch im Harne des neugeborenen Kalbes, ferner im Kindswasser und im Harne neugeborener Kinder innerhalb der ersten acht Tage nach der Geburt gefunden. Nach Gusserow und Hermann ist Allantoïn im normalen menschlichen Harne in geringer Menge enthalten, reichlicher im Harne von Schwangeren. In Ascitesflüssigkeit ist Allantoïn bei der Lebercirrhose[1]) gefunden, ferner im Inhalt einer Ovarialcyste[2]). Im Harn von Hunden und anderen Thieren findet es sich nach Meissner[3]) häufig in geringer Menge, in vermehrter nach Einführung von Harnsäure[4]), von Kalbsthymus[5]), von Pancreas[6]), von Hypoxanthin[7]), nach Vergiftung mit Diamidsulfat[8]). Eingeführtes Allantoïn erscheint bei Hunden fast vollständig im Harn wieder, bei Menschen nur zum geringen Theil (Poduschka). Auch in Pflanzen ist es nachgewiesen in Sprossen von Platanen[9]) und Acerarten[10]), in der Rinde von Aesculus hippocastanum[10]), in Weizenkeimen[11]) und Rübensäften[12]). Vorkommen.



Man stellt Allantoïn am Besten dar[13]) durch vorsichtigen Zusatz von Darstellung.

---

[1]) Moscatelli, Zeitschr. f. physiol. Chem. **13**. 202. (1889.)
[2]) Naunyn, Arch. f. Anat. u. Physiol. 1865. S. 185.
[3]) Zeitschr. f. rat. Med. **31**. 303. (1868.)
[4]) Salkowski, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. **9**. 719. (1876.) u. **11**. 500 (1878.) Vergl. Poduschka, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **44**. 59. (1900.)
[5]) Minkowski, Arch. f. exp. Path. u. Pharmak. **41**. 393. (1898.) Th. Cohn, Zeitschr. f. physiol. Chem. **25**. 507. (1898.)
[6]) Salkowski, Centralbl. f. d. med. Wiss. 1898. S. 929.
[7]) Minkowski, a. a. O. S. 405.
[8]) Borissow, Zeitschr. f. physiol. Chem. **19**. 499. (1894.)
[9]) Schulze u. Barbieri, Journ. f. prakt. Chem. N. F. **25**. 145. (1882.)
[10]) E. Schulze u. Bosshard, Zeitschr. f. physiol. Chem. **9**. 420. (1885.)
[11]) Richardson u. Crampton, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. **19**. 1180. (1886.)
[12]) v. Lippmann, Ebendas. **29**. 2645. (1896.)
[13]) Ad. Claus, Ebendas. **7**. 227. (1874.)

übermangansaurem Kali (1 Mol.) zu in Wasser zertheilter Harnsäure (3 Mol.) bei gewöhnlicher Temperatur unter Vermeidung jeder Erwärmung. Man filtrirt dann schnell das Manganhyperoxyd ab, übersättigt das Filtrat mit Essigsäure und lässt 24 Stunden zur Krystallisation stehen. Auch durch Bleihyperoxyd, Kupferoxydhydrat, Ferricyankalium, Ozon wird aus Harnsäure Allantoïn neben Kohlensäure gebildet. Synthetisch ist Allantoïn dargestellt von Grimaux[1]) durch längeres Erhitzen von Glyoxylsäure mit Harnstoff bei 100°.

Isolirung. Um Allantoïn aus Flüssigkeiten zu isoliren, ist es zweckmässig, durch Kochen und Filtriren erst die Eiweissstoffe zu entfernen, dann mit salpetersaurem Quecksilberoxyd zu fällen, den ausgewaschenen Niederschlag in Wasser zertheilt mit Schwefelwasserstoff zu zerlegen, zu filtriren, nach Zusatz von etwas Ammoniak auf dem Wasserbade auf ein sehr kleines Volumen zu verdunsten und dann die klare Flüssigkeit mit ammoniakalischer Lösung von salpetersaurem Silberoxyd zu fällen. Der Niederschlag ist in überschüssigem Ammoniak löslich. Man lässt einige Zeit stehen, sammelt das ausgeschiedene Allantoïn-Silberoxyd auf dem Filter, wäscht gut aus, zertheilt es in Wasser und zerlegt es mit Schwefelwasserstoff. Aus dem eingedampften Filtrat krystallisirt Allantoïn.

Isolirung aus Harn. Für die Gewinnung und quantitative Bestimmung im Harn hat Loewy[2]) folgendes Verfahren, das auch von Swain[3]) empfohlen wird, angegeben. Der schwach saure Harn wird mit Quecksilberoxydulnitrat (möglichst wenig saure, etwas metallisches Quecksilber enthaltende Lösung) ausgefällt, der Niederschlag abfiltrirt und ausgewaschen, das Filtrat mit Schwefelwasserstoff behandelt, filtrirt, durch Erwärmen von Schwefelwasserstoff befreit und nach Zufügen von Magnesiumoxyd mit Silbernitrat ausgefällt. Den Niederschlag filtrirt man, wäscht aus, und zerlegt ihn nach Zertheilen in Wasser in der Wärme mit Schwefelwasserstoff. Das Filtrat wird zur Trockne eingedampft, der Rückstand mit heissem Wasser extrahirt und die erkaltete wässerige Lösung mit Quecksilberoxydnitrat gefällt. Den ausgewaschenen Niederschlag zerlegt man mit Schwefelwasserstoff; aus dem eingeengten Filtrat krystallisirt Allantoïn aus. Ein anderes Verfahren ist von Poduschka mitgetheilt. Bei reichlichem Gehalt scheidet sich Allantoïn aus dem auf $^1/_8$—$^1/_{10}$ eingedampften und mit Essigsäure angesäuerten Harn beim längeren Stehen in der Kälte aus (Minkowski). Beim Fällen von eingedampftem Harn mit Alkohol geht stets ein Theil des Allantoïns in die alkoholische Lösung über, durch Aether wird es aus derselben gefällt.

Eigenschaften. Das Allantoïn krystallisirt in glänzenden, durchsichtigen, kleinen Prismen, ist geruch- und geschmacklos und ohne Reaction auf Lacmus, in 160 Thl.

---

[1]) Compt. rend. **83.** 62. (1876.)

[2]) Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm. **44.** 19. (1900.)

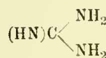
[3]) Americ. Journ. of Physiol. **6.** 38. (1902.)

kaltem Wasser, viel leichter in heissem Wasser löslich, unlöslich in kaltem absolutem Alkohol oder Aether, in heissem Alkohol ziemlich löslich. Nach Poduschka ist es in Alkohol nicht unlöslich, und in Wasser von Zimmertemperatur nur zu 0,1 pCt. löslich; in kohlensauren Alkalien löst es sich leichter. Beim Erhitzen bräunt es sich oberhalb 220° und schmilzt unter Zersetzung und Gasentwicklung bei 231°. Durch Phosphorwolframsäure wird seine salzsaure Lösung nicht gefällt. Es verbindet sich nicht mit Säuren, wohl aber mit Metallen. Durch ammoniakalische Silberlösung wird es aus seinen concentrirten Lösungen gefällt, löst sich aber in überschüssigem Ammoniak wieder auf. Die niederfallenden weissen Flocken bestehen aus Allantoïn-Silberoxyd, beim Stehen wandeln sich dieselben in Körner um; trocknet man sie bei 100°, so tritt leicht Reduction von Silber ein. Auch Blei- und Kupferverbindungen des Allantoïns sind leicht zu erhalten. Durch salpetersaures Quecksilberoxyd wird Allantoïn gleichfalls gefällt, aber weder durch Kupfersulfat und Natriumbisulfit noch durch Bleiacetate. Fehling'sche Lösung wird bei längerem Kochen reducirt.

Durch Erhitzen mit concentrirter Schwefelsäure wird Allantoïn in Ammoniak, Kohlensäure und Kohlenoxyd, durch Kochen mit Barytwasser in Kohlensäure, Ammoniak, Oxalsäure und Hydantoïn, durch concentrirte Alkalilauge in Ammoniak, Essigsäure und Oxalsäure, durch kochende Salpetersäure in Harnstoff und Allantursäure verwandelt. Durch unterbromigsaures Natron wird die Hälfte des Stickstoffgehaltes in Freiheit gesetzt[1]). Zersetzungen.

Um Allantoïn nachzuweisen ist seine Isolirung erforderlich. Zu seiner Identificirung dienen besonders das Verhalten der Lösung der erhaltenen Krystalle gegen ammoniakalische Silberlösung und die Analyse der Silberverbindung. Das gut ausgewaschene und im Vacuum über Schwefelsäure getrocknete Allantoïnsilber liefert beim Glühen 40,71 pC. Ag. Nachweis.

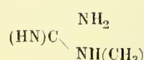
114. **Guanidin** CH_5N_3 wurde durch Oxydation des Guanins erhalten, tritt in geringer Menge bei der Oxydation von Hühnereiweiss mit Kaliumpermanganat auf (Lossen[2]). Diese Angabe konnte Pommerrenig[3]) nicht bestätigen. Schulze[4]) fand es in Wickenkeimlingen, v. Lippmann[5]) in Rübensäften.



Es bildet in Wasser und Alkohol leicht lösliche Krystalle, von stark alkalischer Reaction, zieht an der Luft Kohlensäure an und giebt ein schön krystallisirendes Carbonat $(CH_5N_3)_2 . H_2CO_3$, auch mit anderen Säuren gut krystallisirende Verbindungen. Das Pikrat $CH_5N_3 . C_6H_3N_3O_7$ ist in Wasser (1:2630), Alkohol und Aether schwer löslich und eignet sich desshalb und auch wegen seiner charakteristischen Krystallform zur Isolirung und Erkennung des Guanidins (Emich[6]). Durch Phosphorwolframsäure wird Guanidin gefällt, auch Nessler's Reagens fällt alle Guanidinsalze. Beim Kochen mit Barytwasser zerfällt es in Ammoniak und Harnstoff.

---

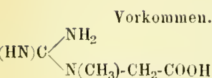
[1]) Malerba, Gazz. chim. **15**. 531. (1885.)
[2]) Ann. Chem. Pharm. **201**. 369. (1880.)
[3]) Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. **I**. 561. (1902.)
[4]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **17**. 193. (1893.)
[5]) Ber. d. deutsch. Ges. **29**. 2645. (1896.)
[6]) Monatsh. f. Chem. **12**. 23. (1891.)



115. **Methylguanidin** $C_2H_7N_3$ wurde von Brieger[1]) aus faulem Pferdefleisch und aus Kulturen von Kommabacillen auf Rindfleisch und von Hoffa[2]) aus mit Septicaemiebacillen geimpften und gestorbenen Kaninchen gewonnen. Man erhält es durch Kochen von Kreatinlösung mit Quecksilberoxyd oder Bleihyperoxyd und Schwefelsäure und aus Kreatinin durch Permanganat. Synthetisch wurde es von Erlenmeyer durch Vereinigung von salzsaurem Methylamin mit Cyanamid in alkoholischer Lösung bei 60 bis 70° dargestellt.

Sehr hygroskopische Krystalle, stark alkalisch reagirend. Das Platindoppelsalz krystallisirt in monoklinen Prismen und löst sich in 14,3 Thl. Wasser bei 18—19°. Das Golddoppelsalz bildet rhombische Krystalle, schwer löslich in Wasser und Alkohol, leicht löslich in Aether, sehr zersetzlich, die Pikrinsäureverbindung $C_2H_7N_3 . C_6H_2(NO_2)_3OH$ in Wasser schwer lösliche Nadeln, welche bei 192° schmelzen. Methylguanidin wird durch Phosphorwolframsäure gefällt.

Vorkommen.



116. **Kreatin** $C_4H_9N_3O_2$. Das Kreatin findet sich besonders in dem Safte der willkürlichen und glatten Muskeln der Wirbelthiere und vieler Avertebraten und ist in geringerer oder grösserer Menge in den verschiedenen Transsudaten, der Amniosflüssigkeit, dem Blute und auch im Gehirne nachgewiesen. Im normalen Harne findet sich wenig oder kein Kreatin.

Darstellung. Synthetisch entsteht es nach Volhard[3]) durch direkte Vereinigung von Sarkosin und Cyanamid; es wurde auch durch Erhitzen von Guanidincarbonat und Sarkosin auf 140—160° gewonnen[4]).

Um es aus Flüssigkeiten darzustellen, entfernt man durch Kochen die Eiweissstoffe, fällt das Filtrat mit Bleiessig unter Vermeidung eines Ueberschusses, filtrirt, fällt aus dem Filtrate durch Schwefelwasserstoff das Blei, filtrirt wieder und dampft bei mässiger Temperatur auf ein kleines Volumen ein. Man lässt dann die Lösung eine Woche an einem kühlen Orte stehen, filtrirt die ausgeschiedenen Krystalle ab und wäscht sie mit etwas 88 proc. Alkohol. Ueber die Darstellung aus Muskeln vergl. „Untersuchung der Organe“.

Eigenschaften. Das Kreatin krystallisirt aus seinen Lösungen in durchsichtigen farblosen, harten, rhombischen Prismen mit 1 Mol. Wasser; bei 100° getrocknet, auch schon auf dem Wasserbade werden die Krystalle weiss unter Verlust des Krystallwassers. Es besitzt einen bitteren, kratzenden Geschmack, löst sich in 74 Theilen kaltem, viel leichter in heissem Wasser, fast gar nicht in Alkohol, ist unlöslich in Aether. Die Lösungen reagiren neutral. Beim Erhitzen über 100° wird es leicht zersetzt, mit Säure erhitzt oder nur längere Zeit mit Wasser gekocht verliert es Wasser und geht dabei in Kreatinin über. Mit der aequivalenten Menge einer Säure in wässeriger Lösung versetzt und im Vacuum über Schwefel-

---

1) Brieger, Ptomaine III. S. 34 (1886) u. Berl. klin. Wochenschrift. 1887. No. 44.

2) Sitzungsber. d. phys. med. Ges. zu Würzburg 1889. S. 96.

3) Sitzungsber. d. bayerisch. Acad. 1868. Heft 3. S. 472.

4) Horbaczewski, Wien. med. Jahrb. 1885. S. 459.

säure verdunstet liefert es Salzverbindungen, die sehr unbeständig sind und sauer reagiren. Durch salpetersaures Quecksilberoxyd wird es in Flocken gefällt, aus concentrirter Lösung erhält man durch Chlorzink allmählich harte, warzige Krystalle, besonders nach Zusatz von Alkohol, auch mit Chlorcadmium giebt es eine entsprechende, aber sehr lösliche Verbindung. Durch Phosphorwolframsäure und Bleiessig wird es nicht gefällt.

Zersetzungen.

Mit Quecksilberoxyd in wässeriger Lösung gekocht giebt es unter Abscheidung von metallischem Quecksilber oxalsaures Methylguanidin. Mit Barytwasser gekocht liefert es Methylhydantoïn, Sarkosin, Harnstoff, Ammoniak und Kohlensäure. Beim Erhitzen von Kreatin mit Natronkalk erhält man Methylamin.

Nachweis.

Zum Nachweis ist die Darstellung der Krystalle erforderlich. Man prüft, ob sie beim Trocknen auf dem Wasserbade weiss und undurchsichtig werden. Die Fällbarkeit der Lösung durch salpetersaures Quecksilberoxyd, Reduction von Quecksilberoxyd beim Kochen sind weitere, allerdings mangelhafte Reactionen. Am Besten kocht man die Lösung mit verdünnter Schwefelsäure und stellt mit der neutralisirten Lösung die Kreatininreactionen an (siehe folgenden Paragraphen).

Vorkommen.

$$(HN)C \begin{cases} NH - CO \\ N(CH_3) - CH_2 \end{cases}$$

117. **Kreatinin** $C_4H_7N_3O$. Das Kreatinin ist mit Sicherheit als constanter Bestandtheil des Harns von Menschen und einigen Säugethieren nachgewiesen. In kleinen Mengen findet es sich auch in den Muskeln neben Kreatin, auch in der Milch ist es in geringer Menge vorhanden. Die Angaben von G. S. Johnson[1]), dass das aus dem Harn dargestellte Kreatinin von dem Muskelkreatinin verschieden sei, haben sich nicht bestätigt (Toppelius und Pommerehne[2]), Wörner[3]).

Darstellung: aus Kreatinin.

Man stellt es aus Kreatin dar, indem man dieses mit sehr verdünnter Schwefelsäure $^1/_4$ Stunde lang kocht, dann durch Bariumcarbonat neutralisirt, filtrirt, die Flüssigkeit auf dem Wasserbade zur Trockne verdunstet und den Rückstand mit Alkohol extrahirt. Der Alkoholauszug liefert beim Verdunsten Kreatininkrystalle.

aus Harn.

Aus Menschenharn erhält man Kreatinin nach folgenden Verfahren. 1. Nach Maly[4]) werden mehrere Liter Harn auf $^1/_3$ oder $^1/_4$ Vol. abgedampft, von den ausgeschiedenen Salzen abgegossen und mit Bleizucker gefällt. Aus der abfiltrirten Lösung entfernt man das Blei mit Sodalösung oder Schwefelwasserstoff, filtrirt, neutralisirt durch Essigsäure bezw. Soda und fällt mit concentrirter Quecksilberchloridlösung. Der Niederschlag wird in Wasser zertheilt und mit Schwefelwasserstoff zerlegt, die abfiltrirte Flüssigkeit mit Thierkohle entfärbt und die beim Abdampfen erhaltene Salzmasse aus starkem

---

1) Proceed. roy. soc. **43**. 493 (1888) u. **50**. 287 (1891.) Chem. News. **55**. 304. (1887.)
2) Arch. d. Pharm. **234**. 380. (1896.)
3) Zeitschr. f. physiol. Chem. **27**. 1. (1899.)
4) Ann. Chem. Pharm. **159**. 279. (1871.)

Alkohol ein oder zweimal umkrystallisirt. Aus der salzsauren Verbindung kann man dann durch Bleioxydhydrat leicht das Kreatinin abspalten und rein gewinnen. 2. Nach Hofmeister[1]) erhält man es durch Fällung des Harns mit Phosphorwolframsäure und Salzsäure, Zerlegung des Niederschlags mit Barytwasser, Entfernung des überschüssigen Baryts durch Kohlensäure, Abdampfen des Filtrats, Extraction des Rückstandes mit Alkohol und Verdunsten des Filtrats.

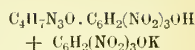
Eigenschaften. Das Kreatinin scheidet sich aus heiss gesättigten Lösungen in farblosen, glänzenden, wasserfreien Prismen (monoklinoëdrisch) von stark ätzendem Geschmacke ab; aus kalt gesättigten Lösungen krystallisirt es sehr häufig in grossen Tafeln oder Prismen mit 2 Mol. Krystallwasser, die sehr leicht verwittern (Wörner). Es reagirt sehr schwach alkalisch oder neutral[2]), ist nicht flüchtig und löst sich in 11,5 Theilen kaltem, sehr leicht in heissem Wasser, in 625 Theilen absolutem Alkohol, leichter in heissem, sehr wenig in Aether. In alkalischer Lösung wird es besonders in der Wärme in Kreatin umgewandelt. Aus nicht zu verdünnter wässeriger Lösung wird es gefällt: 1. durch Silbernitrat; der aus feinen Krystallnadeln bestehende Niederschlag löst sich in heissem Wasser und scheidet sich beim Erkalten wieder aus; 2. durch Sublimat in ähnlicher Weise; 3. durch Mercurinitrat und allmählichen Zusatz von Natriumcarbonat; 4. durch Phosphorwolframsäure.

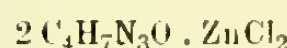
Salze. Es verhält sich wie ein kräftiges Alkali, treibt Ammoniak aus seinen Verbindungen aus, bildet mit Säuren sauer reagirende, gut krystallisirende
$C_4H_7N_3O . HCl$ Salze: Salzsaures Kreatinin, durch Abdampfen von Kreatinin mit Salzsäure auf dem Wasserbade erhalten, bildet in Wasser leicht lösliche, durchsichtige Prismen oder rhombische Tafeln. Die beim Verdunsten kalt gesättigter wässriger Lösungen sich ausscheidenden Krystalle enthalten 1 Mol. Wasser. Die Lösung dieses Salzes wird durch Chlorzink nicht gefällt, wohl aber nach Zusatz von essigsaurem Natron im Ueberschusse. Salzsaures
$2(C_4H_7N_3O . HCl) . PtCl_4$ Kreatinin-Platinchlorid bildet in Wasser leicht (1 : 36), in Alkohol schwerer lösliche orangerothe Prismen und Nadeln. Aus wässeriger Lösung krystallisirt es mit 2 Mol. Krystallwasser, aus alkoholischer wasserfrei.
$C_4H_7N_3O . HCl . AuCl_3$ Salzsaures Kreatinin-Goldchlorid ist in Wasser oder Alkohol leicht löslich, in Aether unlöslich und scheidet sich in schönen, goldgelben Blättchen ab, wenn man bei 40—50° in möglichst wenig Wasser gelöstes salzsaures Kreatinin mit wenig mehr als der berechneten Menge Goldchlorid versetzt. Sm.-P. der bei 100° getrockneten Substanz bei 170 bis
$C_4H_7N_3O . C_6H_2(NO_2)_3OH$ 174°. Pikrinsaures Kreatinin scheidet sich in Form langer gelber Nadeln aus, die in Wasser ziemlich schwer löslich sind, wenn wässerige

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 5. 67. (1881.)
[2]) Salkowski, Ebendas. 12. 211. (1888.)

Kreatininlösung mit wässeriger Prikrinsäure versetzt wird[1]. Sm.-P. 212 bis 213°. Pikrinsaures Kreatinin-Kali scheidet sich aus normalem menschlichem Harne auf Zusatz von Pikrinsäure als gelbe Nadeln und Prismen ab, in heissem Wasser leicht, in kaltem schwer löslich[1]. Kynurensaures Kreatinin scheidet sich in Büscheln von farblosen, dünnen Prismen ab, wenn man gepulverte Kynurensäure in einer heissen verdünnten Lösung von Kreatinin auflöst. Sie sind in Wasser leicht löslich und zersetzen sich beim Umkrystallisiren[1]. Kreatinin-Chlorzink, die wichtigste Verbindung des Kreatinins, wird erhalten, wenn man zu einer alkoholischen oder nicht allzu verdünnten wässrigen Lösung von Kreatinin säurefreie, concentrirte Chlorzinklösung hinzutropft. Es entsteht entweder sofort ein sehr feinkörniger Niederschlag oder es bilden sich bei grösserer Verdünnung allmählich schöne Gruppen feiner Nadeln oder Prismen. Aus dem Harnextracte erhält man diese Verbindung nach Zusatz von Chlorzink meist in warzigen Krusten an den Wandungen des Gefässes, dem zahlreiche Büschel und Sterne von Nadeln beigemengt sind. In kaltem Wasser ist die Verbindung sehr wenig, in heissem Wasser leichter löslich, in Alkohol unlöslich, in Mineralsäuren leicht löslich. Durch Kochen mit Bleioxydhydrat wird Zinkoxyd, Chlorblei und freies Kreatinin erhalten.





Zersetzungen.

Durch Kochen mit Quecksilberoxyd oder mit Bleihyperoxyd und Schwefelsäure oder durch übermangansaures Kali wird es ebenso wie Kreatin unter Bildung von Methylguanidin zerlegt. Bei anhaltendem Kochen von Kreatinin mit Fehling'scher Lösung tritt allmählich Entfärbung ein, das Kupferoxyd wird reducirt, kann aber nur zur Ausscheidung kommen, wenn die Lösung längere Zeit auf 90—100° erhitzt wird. 1 Mol. Kreatinin reducirt bei hinreichend langem Kochen (1/2 Stunde) 4 Mol. Kupferoxyd[2].

Zum Nachweis dienen folgende Reactionen:

Nachweis.

1. Reaction von Weyl[3]: Man versetzt die zu prüfende Lösung, z. B. Menschenharn, mit wenigen Tropfen einer sehr verdünnten wässerigen Lösung von Nitroprussidnatrium und fügt dann tropfenweise verdünnte Natronlauge hinzu. Ist Kreatinin vorhanden, so färbt sich die Flüssigkeit schön rubinroth, aber nur kurze Zeit, die Farbe geht dann in Gelb über*). Weder Kreatin noch andere ähnliche Körper geben diese Reaction, wohl aber Aceton, bei dessen Anwesenheit die rothe Farbe auf Zusatz von Essigsäure in Violett übergeht (S. 76). Dasselbe lässt sich auch vor Anstellung der Probe durch Kochen

*) Kühlt man diese gelbe Flüssigkeit durch Eis, fügt Essigsäure bis zur neutralen oder schwach sauren Reaction hinzu und rührt tüchtig um, so scheidet sich ein weisser krystallinischer Niederschlag von der Zusammensetzung eines Nitrosokreatinins ab. Kramm, Centralbl. d. med. Wiss. 1897. S. 785.

[1] Jaffé, Zeitschr. f. physiol. Chem. **10.** 391. (1886.)

[2] Worm-Müller, Arch. f. d. ges. Physiol. **27.** 59. (1882.) Wörner a. a. O.

[3] Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. **11.** 2175. (1878.)

entfernen. In einer wässrigen Lösung giebt 0,287 p. M. Kreatinin noch diese charakteristische Färbung, im Menschenharne geben sie noch 0,66 p. M. Kreatinin. Salkowski[1]) fand, dass die gelb gewordene Flüssigkeit nach Zusatz von Eisessig und Erhitzen sich erst grünlich, dann blau färbt (Berliner Blau); Colasanti[2]) empfiehlt Ameisensäure statt Essigsäure. (War die Reaction nur durch Aceton bedingt, so bildet sich kein Berlinerblau.)

2. Reaction von Jaffé[3]). Man versetzt die zu prüfende Lösung, z. B. Harn, mit etwas wässeriger Pikrinsäurelösung und einigen Tropfen verdünnter Natronlauge. Bei Anwesenheit von Kreatinin tritt sofort Rothfärbung (rothorange bis dunkelblutroth) ein; dieselbe nimmt in den nächsten Minuten zu und bleibt stundenlang unverändert. Sie fällt noch positiv aus bei Verdünnung von 1 auf 5000 Th. Nur das Aceton zeigt auf Zusatz der genannten Reagentien in der Kälte eine schwach röthlich-gelbe Färbung, die indess mit der viel intensiveren rein rothen Färbung durch Kreatinin nicht verwechselt werden kann.

3. Reaction von Maschke[4]). Sättigt man eine wässerige Lösung von Kreatinin mit Natriumcarbonat und fügt Fehling'sche Kupferlösung hinzu, so entsteht bei gewöhnlicher Temperatur allmählich, schneller beim Erhitzen, weissliche Trübung, dann flockiger Niederschlag, während die blaue Färbung der Lösung abnimmt. Der weisse Niederschlag besteht aus Kreatininkupferoxydul, ist leicht löslich in Wasser, verdünnter Salzsäure, auch in Ammoniak, schwer löslich in gesättigter Natriumcarbonatlösung. Eine Lösung, welche 0,01 g Kreatinin in 100 ccm. enthält, giebt noch weisse Trübung. Kreatin giebt diese Reaction nicht.

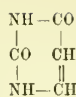
118. **Isokreatinin $C_4H_7N_3O$** nennt Thesen[5]) einen von ihm aus dem Fleisch von Dorschen (Gadua Morrhua, Kabeljau) isolirten, mit dem Kreatinin isomeren Körper, der sich in mehrfacher Beziehung von dem Kreatinin unterscheidet.

Es löst sich in 4,3 Th. Wasser von 12°, 316 Th. kaltem und 83 Th. siedendem Alkohol. Aus heissem starkem Alkohol scheidet es sich als feines, gelbes Pulver mikroskopischer Nadeln, aus 50proc. Alkohol und aus Wasser als gelbe, glänzende Blättchen und rechtwinklige Tafeln ab. Die Farbe der Krystalle ist stets gelb. Es zersetzt sich bei 230—240°, ohne zu schmelzen und bildet ein in Wasser leicht lösliches Pikrat, ein in Alkohol fast unlösliches Sulfat und saures Oxalat. Die Chlorzinkverbindung ist in Alkohol sehr schwer löslich, in Wasser auch schwer, aber doch leichter als Kreatininchlorzink. Durch salpetersaures Silber wird es nicht gefällt. Durch längere Einwirkung von Kalkmilch scheint es in Kreatin übergeführt zu werden. Bei der Behandlung mit Kaliumpermanganat giebt es Ammoniak, aber kein Methylguanidin. Gegen kochende conc. Schwefelsäure ist es ausserordentlich widerstandsfähig. Es giebt die Reactionen von Jaffé und Weyl, letztere tritt aber weder so schnell ein, wie beim Kreatinin, noch in so grosser Verdünnung.

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **4.** 133. (1880.) u. **9.** 127. (1885.)
2) Gazz. chim. **17.** 133. (1887.)
3) Zeitschr. f. physiol. Chem. **10.** 399. (1886.)
4) Zeitschr. f. anal. Chem. **17.** 134. (1878.)
5) Zeitschr. f. physiol. Chem. **24.** 1. (1898.)

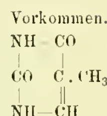
119. **Uracil (2. 6-Dioxypyrimidin)** $C_4H_4N_2O_2$ wurde von Ascoli[1]) aus Hefenucleïnsäure erhalten.



Synthetisch gewannen es E. Fischer und Roeder[2]), indem sie aus Harnstoff und Acrylsäure durch einstündiges Erhitzen auf 210—220° Hydrouracil darstellten und dieses durch Erhitzen mit Brom in Eisessig auf 100° in Bromhydrouracil überführten. Aus letzterem entsteht durch Erwärmen mit Pyridin auf dem Wasserbad Uracil. Zur Darstellung aus Hefenucleïnsäure dient das Verfahren von Jones (§ 120).

Weisses krystallinisches Pulver von rosettenförmig angeordneten Nadeln, in heissem Wasser leicht, in kaltem schwer löslich, leicht löslich in Ammoniak, fast unlöslich in Alkohol und Aether. Vorsichtig erhitzt sublimirt es nur theilweise unzersetzt, z. Th. entwickelt es rothe Dämpfe oder es verkohlt. Gegen Silbernitrat verhält es sich wie Thymin, wird auch durch Mercurinitrat gefällt, nicht aber durch Phosphorwolframsäure. Die Weidel'sche Reaction (§ 125) fällt positiv aus (Steudel[3]).

120. **Thymin*) (5-Methyluracil)** $C_5H_6N_2O_2$ wurde zuerst von Kossel und Neumann[4]) bei der hydrolytischen Spaltung der Nucleïnsäure aus Thymus dargestellt. Es ist den sog. Thymonucleïnsäuren verschiedensten Ursprungs enthalten. Vorkommen.



Synthetisch gewannen es E. Fischer und Roeder[5]) aus Harnstoff und Methakrylsäure nach einem im vorigen Paragraphen beschriebenen Verfahren. Darstellung.

Zur Darstellung aus Thymonucleïnsäure wird letztere 2 Stunden mit Wasser bei 170° erhitzt, die mit Schwefelsäure schwach angesäuerte Reactionsflüssigkeit mit Phosphorwolframsäure völlig ausgefällt und das Filtrat mit Baryt stark alkalisch gemacht. Beim Eindampfen der durch Schwefelsäure vom Barytüberschuss befreiten und filtrirten Flüssigkeit scheidet sich das Thymin aus. Die Krystallisation wird durch Entfernung ätherlöslicher Spaltungsproducte begünstigt. Die Ausbeute beträgt ungefähr 8 pCt. (Kossel und Neumann). Um sie aus Häringstestikeln zu gewinnen, werden je 250g, schon vorher zur Entfernung des Protamins mit Säure extrahirt, mit 20proc. Schwefelsäure versetzt, so dass ein dicker Brei entsteht und dann im Autoklaven 2 Stunden auf 150° erhitzt. Nach Verdünnen mit dem gleichen Vol. Wasser wird filtrirt, mit fein pulverisirtem Baryt bis zur schwach, aber deutlich alkalischen Reaction versetzt, das Bariumsulfat ab-

---

*) Das „Nucleosin" aus der Salmonucleïnsäure ist mit Thymin identisch.

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **31**. 161. (1900—1901.)

2) Ber. d. d. chem. Ges. **34**. 3751. (1901.)

3) Zeitschr. f. physiol. Chem. **30**. 541. (1900.)

4) Ber. d. d. chem. Ges. **26**. 2753. (1893) u. **27**. 2217. (1894.) Gulewitsch, Zeitschr. f. physiol. Chem. **27**. 292. (1899.)

5) Sitzungsber. d. K. pr. Akad. d. Wiss. zu Berlin 1901. XII. S. 268 u. Ber. d. d. chem. Ges. **34**. 3751. (1901.)

filtrirt, mit kochendem Wasser ausgewaschen und das Filtrat so mit Wasser verdünnt resp. eingeengt, dass das Vol. der Lösung für je 100 g trockner Testikel 500 ccm beträgt. Nachdem nun für eine kleine abgemessene Portion dieser Lösung nach schwachem Ansäuern mit Salpetersäure ermittelt ist, wie viel ccm einer 2 proc. Silbernitratlösung zugesetzt werden müssen, bis ein Tropfen der Flüssigkeit, in einen Ueberschuss von Barytlösung gebracht, keinen weissen, sondern einen gelben Niederschlag giebt, säuert man die ganze Menge mit Salpetersäure an und fügt zu je 500 ccm die berechnete Menge der 2 proc. Silbernitratlösung hinzu, filtrirt ab, fügt Barytwasser bis zur schwach alkalischen Reaction hinzu, wäscht den entstandenen Niederschlag durch Dekantiren mit kaltem Wasser und saugt ihn ab. Jede Portion des Niederschlags zersetzt man sofort mit Schwefelwasserstoff unter Druck, filtrirt, vereinigt die Filtrate, dampft zur Krystallisation ein und krystallisirt unter Zusatz von Thierkohle um (Jones[1]).

Eigenschaften. Thymin ist in kaltem Wasser schwer, in heissem leicht löslich, in Alkohol weniger leicht. Aus heissem Wasser krystallisirt es in sternförmig oder dendritisch gruppirten kleinen Blättchen, selten auch in kurzen Nadeln. Trocken bildet es ein fettig seidenglänzendes Filzwerk. Bei vorsichtigem Erhitzen sublimirt es, ohne zu schmelzen, bei raschem Erhitzen schmilzt das ganz reine Präparat bei 321° unter Gasentwicklung (E. Fischer und Roeder). In heisser conc. Kalilauge gelöst, scheidet es sich beim Einengen als Thyminkalium $C_5H_7N_2O_3K$ aus. Mit Salzsäure und Salpetersäure giebt es keine Verbindungen. Silbernitratlösung fällt Thymin nicht, aber nach vorsichtigem Zusatz von Ammoniak oder Barytwasser zu der Mischung entsteht ein in überschüssigem Ammoniak leicht löslicher, voluminöser Niederschlag. Quecksilbernitrat erzeugt voluminöse Fällung, auch durch Phosphorwolframsäure wird es gefällt. Bromthymin $C_5H_7N_2O_3Br$ krystallisirt und ist in Wasser viel leichter löslich als Thymin (Jones[2]). Dichlorthymin $C_5H_4N_2Cl_2$ bildet in Wasser fast unlösliche, in Alkohol, Aether leicht lösliche Krystalle (Steudel und Kossel[3]), Dimethylthymin in Chloroform, Aether, Alkohol lösliche Nadeln, Sm.-P. 153° (Steudel[4]). Durch Nitrirung des Thymins und nachfolgende Reduction mit Zinn und Salzsäure erhält man eine in feinen Nadeln krystallisirende Base, welche die Weidel'sche Reaction (§ 125) giebt. Durch Oxydation mit Bariumpermanganat entsteht Harnstoff (Steudel[5]).

Nachweis. Zum Nachweis benutzt man sein charakteristisches Verhalten gegen Silbernitrat und Ammoniak, seine Sublimirbarkeit und seine Fähigkeit Bromwasser zu entfärben.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **29**. 461. (1900.)
Ascoli, Ebendas. **31**. 161. Anmkg. 4. (1900—1901.)

[2]) Ebendas. **29**. 20. (1900.)

[3]) Ebendas. **29**. 303. (1900.)

[4]) Ebendas. **30**. 539. (1900.) [5]) Ebendas. **32**. 241. (1901.)

Purinkörper (Alloxurkörper).

121. Unter dem Namen Purinkörper fasst E. Fischer eine Gruppe von Verbindungen zusammen, die sich alle von dem Purin $C_5H_4N_4$ ableiten. Zu dieser Gruppe gehören von im thierischen Organismus gefundenen Stoffen die Harnsäure, die Nucleïnbasen Xanthin, Hypoxanthin, Guanin und Adenin, das Carnin, 1-Methylxanthin, Heteroxanthin, Paraxanthin, Epiguanin, Episarkin, sowie die dem Pflanzenreich angehörenden Coffeïn, Theobromin, Theophyllin. Fast alle diese Körper können jetzt künstlich dargestellt werden. Die Synthese der meisten ist erst in den letzten Jahren von E. Fischer[1]) ausgeführt worden.

N=CH
HC C.NH
N—C.N CH

Die Constitution der genannten Purinkörper und ihre Beziehungen zu einander ergeben sich aus folgenden Bezeichnungen.

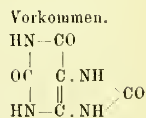
Harnsäure	=				2. 6. 8. Trioxypurin
Xanthin	=				2. 6. Dioxypurin
1. Methylxanthin	=			1. Methyl	" " "
Heteroxanthin	=	7. Methylxanthin	=	7. "	" " "
Theophyllin	=	1. 3. Dimethylxanthin	=	1. 3. Dimethyl	" " "
Paraxanthin	=	1. 7. "	=	1. 7. "	" " "
Theobromin	=	3. 7. "	=	3. 7. "	" " "
Coffeïn	=	1. 3. 7. Trimethylxanthin	=	1. 3. 7. Trimethyl	" " "
Hypoxanthin	=				6. Oxypurin
Guanin	=				2. Amino " "
Epiguanin	=	7. Methylguanin	=	7. Methyl	" " "
Adenin	=				6. Aminopurin

Numerirung des Purinkerns:
1—6
2 5—7
8
3—4—9

Alle diese Verbindungen enthalten einen Alloxan- und einen Harnstoffkern und werden desshalb von Kossel und Krüger[2]) auch als Alloxurkörper (von Alloxan und Urea), die Basen als Alloxurbasen bezeichnet.

122. **Harnsäure (2. 6. 8-Trioxypurin) $C_5H_4N_4O_3$.** Die Harnsäure ist besonders reichlich im Harne der Vögel, beschuppten Amphibien und der Insecten sowie anderer Avertebraten enthalten, in geringer Menge im Harne des Menschen und der meisten Säugethiere. Die Blasen- und Nierensteine bestehen oft fast ganz aus Harnsäure und harnsauren Salzen. Im normalen Hühnerblut ist Harnsäure von Meissner in Spuren nachgewiesen, reichlich findet sie sich nach Unterbindung der Ureteren im Blut, in den Lymphgefässen und auch in allen Organen von Vögeln und Schlangen. Im Blut der Säugethiere ist keine Harnsäure nachgewiesen. Im Blut gesunder Menschen wird sie meist vermisst, manchmal auch in geringer Menge gefunden. Fast immer findet sie sich bei Pneumonie, Nephritis, schwerer Anämie und Leukämie, schweren Herzfehlern, sowie bei Gicht. Bei letzterer Krankheit bildet sie oft Ablagerungen in den Gelenken und am Periost der Knochen. In der Leber, Milz, den Lungen, dem Pancreas und Gehirn finden sich geringe Mengen davon beim Menschen und Rinde normal. In der Ascitesflüssigkeit bei Carcinom der Bauchhöhle wurde sie nachgewiesen. Bender fand Harnsäure im Gesichte, auf dem Magen und der Leber einer längere Zeit begraben gewesenen Leiche.

Vorkommen.



1) Vergl. die zusammenfassende Darstellung: Synthesen in der Puringruppe. Ber. d. d. chem. Ges. **32**. 435. (1899.)

2) Zeitschr. f. physiol. Chem. **20**. 177. (1895.)

Darstellung: synthetische. Synthetisch wurde sie erhalten aus Glykocoll und Harnstoff[1]) und aus Isodialursäure und Harnstoff[2]), sowie am Einfachsten durch Erhitzen von Pseudoharnsäure mit Salzsäure[3]).

aus Schlangenexcrementen. Man stellt die Harnsäure aus Guano, am Reinsten aus Schlangenexcrementen dar. Die letzteren werden mit verdünnter Natronlauge erhitzt, das Filtrat wird mit Kohlensäure gesättigt und das ausgeschiedene und abfiltrirte saure harnsaure Natron mit verdünnter Salzsäure gekocht. Die abgeschiedene Harnsäure filtrirt man nach dem Erkalten ab und wäscht sie gut mit Wasser aus.

aus Harn. Zur Isolirung der Harnsäure aus dem Harn versetzt man ihn, wenn er frei von Eiweiss und nicht sehr verdünnt ist, mit Salzsäure und lässt 24 Stunden stehen; bei Gegenwart von Eiweiss bedient man sich besser der Essigsäure, doch ist es zweckmässiger, durch Kochen erst das Eiweiss zu coaguliren und die filtrirte, etwas eingedampfte Flüssigkeit dann mit Essigsäure zu versetzen. Verdünnte Harne werden vor dieser Behandlung zuerst auf ein kleines Volumen abgedampft und dann mit der Säure versetzt. Die Abscheidung ist keine quantitative, kann unter Umständen sogar ganz ausbleiben. Es ist wichtig, die etwa vorhandenen Sedimente zu beachten, häufig fällt im diabetischen Harne die ganze Harnsäure als sandiges, rothes Krystallpulver binnen kurzer Zeit aus und kann dann leicht übersehen werden. Wäscht man die nach 24 bis 48 stündigem Stehen abgeschiedenen Harnsäurekrystalle mit Wasser, dann mit Alkohol, so wird der Farbstoff möglichst entfernt und etwa beigemengte Benzoë- oder Hippursäure gelöst. Zur weiteren Reinigung kann man die Krystalle in wenig Natronlauge lösen, mit Chlorammonium saures harnsaures Ammoniak fällen und dies nach dem Abfiltriren mit Salzsäure zerlegen. Auch durch alkoholische Pikrinsäurelösung (für 100 ccm Harn 20 ccm einer 5 proc. alkoh. Lösung) wird die Harnsäure zugleich mit Kreatinin aus dem Harn ziemlich vollständig gefällt. Der gewaschene und getrocknete Niederschlag wird mit verdünnter Salzsäure gekocht und der Lösung die Pikrinsäure durch Schütteln mit Aether entzogen; allmählich scheidet sich die Harnsäure aus (Jaffé[4]).

aus Flüssigkeiten. Um aus Blut, Lymphe, Transsudaten Harnsäure darzustellen, erhitzt man die nöthigenfalls mit Wasser verdünnte Flüssigkeit zum Sieden, filtrirt die Eiweissmassen heiss ab, dampft das Filtrat zur Trockne ein, extrahirt den Rückstand mehrmals mit kochendem Wasser, filtrirt heiss, dampft auf ein kleines Volumen ein, versetzt mit Essigsäure und lässt 24 bis 48 Stunden zur Krystallisation stehen. Die Reinigung der ausgeschiedenen Säure geschieht so, wie es oben für die aus dem Harne dargestellte Harnsäure angegeben ist. aus Organen. Aus Milz, Leber u. s. w. erhält man

1) Horbaczewski, Monatshefte für Chem. **3**. 796. (1882) u. **6**. 352. (1885.)
2) Behrend u. Roosen, Ann. Chem. Pharm. **251**. 235. (1888).
3) E. Fischer, Ber. d. d. chem. Ges. **30**. 559. (1897.)
4) Zeitschr. f. physiol. Chem. **10**. 391. (1886.)

sie ebenso durch Auslaugen der zerkleinerten Organe mit viel schwach erwärmtem Wasser, Coliren, Erhitzen zum Kochen, Abdampfen zur Trockne, Ausziehen des Rückstandes erst mit Alkohol, dann mit heissem Wasser. Aus dem letzteren Extracte wird die Harnsäure, so wie oben angegeben, abgeschieden.

Etwas umständlicher ist das Verfahren, nach dem es Meissner[1]) gelang, in dem Blute und der Leber von Hühnern Harnsäure aufzufinden. Man lässt das Blut (mindestens von 12 Hühnern) aus den durchschnittenen Halsgefässen in eine grössere Menge Wasser unter Schlagen einfliessen, erhitzt die wässerige Lösung unter Zusatz von etwas verdünnter Schwefelsäure zum Sieden und filtrirt. Nach mässiger Concentration auf dem Wasserbade wird mit Barytwasser ausgefällt und nach dem Filtriren der Baryt durch vorsichtigen Zusatz von verdünnter Schwefelsäure gerade ausgefällt. Die abfiltrirte klare Flüssigkeit giebt nach dem Eindampfen (wenn etwa 400 CC. Blut in Arbeit genommen war, auf ungefähr 10 bis 15 CC.) auf Zusatz von absolutem Alkohol einen schmierigen, braunen Niederschlag, welcher von der Lösung getrennt und in etwas Wasser unter Erwärmen gelöst wird; giebt die Lösung dann bei Neutralisation mit Salzsäure und Stehen keinen Niederschlag, so wird weiter eingedampft und wieder stehen gelassen. Der abfiltrirte, braune, amorphe Niederschlag von harnsaurem Alkali lässt sich durch Eintragen in verdünnte Salzsäure in schöne Krystalle von Harnsäure umwandeln. Nach dem gleichen Verfahren fand Meissner Harnsäure in dem wässerigen Extracte zerkleinerter Hühnerlebern, während es in Muskeln und Lunge nicht gelang sie nachzuweisen.

aus Blut u. Leber von Hühnern.

Die Harnsäure bildet ein krystallinisches farbloses Pulver, wenn sie völlig rein ist; sie fällt jedoch aus allen durch Harnfarbstoff gefärbten Flüssigkeiten oder aus dem Extracte des Guano stets gelbroth bis braun gefärbt nieder, krystallisirt im unreinen Zustande besser als nach völliger Reinigung und wird durch Kohle sehr schwer entfärbt. Die Krystalle sind fast stets mikroskopische und zwar bilden sich durch Zusatz geringer Mengen Säure zur verdünnten Lösung z. B. zum menschlichen Harn, ebenso häufig beim Stehen des Harns allmählich rhombische Tafeln oder Säulen, oft mehrere in einander verwachsen, deren stumpfe Winkel meist stark abgerundet sind. Zuweilen zeigen sich spitzwetzsteinförmige, unvollkommene Krystalle. Ist die Harnsäure durch viel starke Säure schnell abgeschieden, so stellt sie vierseitige, gestreifte, oft treppenartig an einander gereihte Prismen mit ziemlich vertical zu den Prismenflächen aufgesetzter Endfläche dar.

Krystallformen.

Die Harnsäure ist geschmack- und geruchlos, nicht flüchtig beim Erhitzen, sie löst sich bei 18° in reinem Wasser wie 1 : 39500[2]), leichter in Wasser bei Gegenwart von Harnstoff, gar nicht in Alkohol oder Aether,

Eigenschaften.

---

[1]) Zeitschr. f. rat. Med. **31.** 146. (1868.)

[2]) His u. Paul, Zeitschr. f. physiol. Chem. **31.** 1. (1900–1901.)

sehr wenig in Ammoniak, aber leicht in Alkalilaugen, in wässerigen Lösungen einiger organischer Basen z. B. Diaethylendiamin (Piperazin). Sie löst sich ferner in wässrigen Lösungen neutraler borsaurer, phosphorsaurer, kohlensaurer, milchsaurer, selbst essigsaurer Alkalien (nicht in den Ammoniakverbindungen dieser Säuren), indem sie diesen Säuren einen Theil des Alkalis entzieht und saures harnsaures neben saurem borsaurem u. s. w. Alkali bildet. Durch Phosphorwolframsäure bei Gegenwart von Salzsäure wird die Harnsäure völlig gefällt, durch Bleiessig langsam. Die geringe Menge Harnsäure, welche in ammoniakalischer Flüssigkeit löslich ist, wird durch ammoniakalische Silberlösung nicht gefällt, wohl aber entstehen gelatinös-flockige Niederschläge bei gleichzeitiger Gegenwart von Alkali- oder Erdalkali- (z. B. Magnesia-)salzen. Dieselben sind Doppelverbindungen der Harnsäure mit Silber und diesen Metallen[1]). Auf diesem Verhalten beruht die quantitative Bestimmung der Harnsäure im Harn nach Ludwig-Salkowski (siehe „Untersuchung des Harns"). Versetzt man eine Lösung von Harnsäure in Natronlauge mit schwefelsaurem Kupferoxyd, so tritt besonders beim Erwärmen Reduction des Kupferoxyds zu Oxydul ein und es bildet sich ein weisser Niederschlag von harnsaurem Kupferoxydul, durch Zusatz von mehr Kupfersalz und Kochen erhält man freies Kupferoxydul. Beim Erhitzen ihrer Lösungen mit Kupfersulfat und Natriumbisulfit fällt Harnsäure ebenfalls als Kupferoxydulsalz aus; beim Erkalten wird die Abscheidung eine fast vollständige[2]). Indigolösung wird durch Harnsäure in alkalischer Lösung schnell und reichlich entfärbt.

Salze. 123. Von den Salzen sind nur die neutralen Alkalisalze z. B. $C_5H_2K_2N_4O_3$ in Wasser leicht löslich, die sauren Alkalisalze und das (saure) Ammonsalz sind schwer löslich, die übrigen Salze sehr schwer löslich oder unlöslich. Eine Lösung von Harnsäure in Alkali wird durch anhaltendes Einleiten von Kohlensäure in der Kälte gefällt, der Niederschlag ist saures Alkalisalz. Diese Fällung durch Kohlensäure wird sehr behindert bezw. ganz aufgehoben bei Gegenwart von Thyminsäure oder Nucleïnsäure (Goto[3]). Fügt man zu einer Lösung von Harnsäure in Alkalilauge einen Ueberschuss von Chlorammonium, so bildet sich alsbald oder nach einiger Zeit ein flockiger Niederschlag von harnsaurem Ammo-
$C_5H_3(NH_4)N_4O_3$ niak. Saures harnsaures Ammoniak ist häufig in Harnsedimenten, Blasen- und Nierensteinen enthalten, ebenso im Harne der Schlangen und Vögel. Dies Salz bildet entweder mikroskopische, an ihren Formen nicht erkennbare, jedoch eckig erscheinende Partikel oder Morgenstern-, Stechapfelformen, Kugel-, Keulen-, Rübenformen. Es löst sich in 1600 Theilen

---

1) Salkowski, Arch. f. d. ges. Physiol. **5**. 210. (1872.)
Maly, Ebendas. **6**. 201. (1872.)
2) Krüger, Zeitschr. f. physiol. Chem. **20**. 170. (1895.)
3) Ebendas. **30**. 473. (1900.)

kaltem, viel leichter in warmem Wasser und ist in gesättigter Salmiaklösung völlig unlöslich. Saures harnsaures Natron bildet den Hauptbestandtheil der meisten sogenannten Ziegelmehlsedimente (Sedimenta lateritia) und gleichfalls häufig den wesentlichen Bestandtheil von Harnsteinen und Schlangenharn. Die weisse Masse des Harns der Vögel besteht dagegen nach Meissner in der Hauptsache aus freier Harnsäure. Die Formen dieses Salzes stimmen mit denen des harnsauren Ammoniaks völlig überein. Aus eingedampften Harnrückständen scheidet es sich stets in Kugeln und Knollen aus, welche denen des Leucins sehr ähnlich sind, aber dunklere Contouren haben. Es löst sich in 1100—1200 Theilen kaltem oder 125 Theilen kochendem Wasser und dieser bedeutende Unterschied in der Löslichkeit je nach der Temperatur bedingt die Ausscheidung des Salzes beim Erkalten des auch bei relativ grossem Gehalte davon klar gelassenen Harns. Die leichte Löslichkeit dieser Niederschläge beim Erwärmen des Harns dient zur Erkennung des harnsauren Natrons. Saures harnsaures Kali, in jeder Beziehung dem Natronsalz ähnlich, findet sich gleichfalls meistens in Harnsedimenten, löst sich in etwa 800 Theilen kaltem und 70 bis 80 Theilen kochendem Wasser. In den Harnsedimenten kommen auch harnsaure Alkalisalze vor, welche etwas mehr oder weniger Alkali als die oben beschriebenen haben[1]; ein Natronsalz, dem man die Formel $C_5H_4N_4O_3 + C_5H_3NaN_4O_3$ geben könnte, findet sich in den arthritischen Ablagerungen auf den Gelenkknorpeln.

$C_5H_3NaN_4O_3$

$C_5H_3KN_4O_3$

So wie die Harnsäure selbst haben auch ihre Salze grosse Neigung, Farbstoffe aus dem menschlichen Harne beim Ausfallen mit sich niederzureissen, während die Ablagerungen in den Gelenken schneeweiss erscheinen, ebenso sind die Ausscheidungen, wie sie im Harne und nach Unterbindung der Ureteren, in den verschiedensten Organen der Vögel auftreten, schneeweiss.

Durch Essigsäure oder Salzsäure werden alle die erwähnten Salze leicht unter allmählichem Absatz krystallisirter Harnsäure zerlegt. Anwesenheit von Thyminsäure und Nucleïnsäure behindert auch die Fällung durch Salzsäure (Goto).

Zersetzungen.

Beim Erhitzen zersetzt sich Harnsäure unter Bildung von Harnstoff, Cyanursäure, Ammoniumcarbonat, Blausäure und Hinterlassung von Kohle. Mit kaltgesättigter Jodwasserstoffsäure oder Salzsäure auf 170° erhitzt zerfällt sie zu Glykocoll, Ammoniak und Kohlensäure, mit conc. Schwefelsäure erhitzt liefert sie Ammoniak und Kohlensäure. Von heisser Salpetersäure wird sie unter Aufbrausen gelöst und zersetzt, mit verdünnter Salpetersäure oder Kaliumchlorat und Salzsäure abgedampft giebt sie beim Trocknen des Rückstandes einen rothen Körper, welcher durch eine Spur

---

[1]) Bence Jones, Chem. Centralblatt. 1862. S. 872. und R. Maly, Ebendas. 1863. S. 581.

Ammoniak schön purpurroth, durch Kali- oder Natronlauge prächtig violettblau gefärbt wird (purpursaures Ammoniak oder Murexid und purpursaures Kali oder Natron). Kalte, sehr starke Salpetersäure mit Harnsäure allmählich gesättigt giebt beim Stehen eine Krystallisation von Alloxan, verdünnte Salpetersäure bildet Alloxantin. Durch Kochen von Harnsäure mit viel Kali bildet sich Uroxansäure. Dieselbe Einwirkung erfolgt langsam in verdünnter Alkalilösung schon bei Bluttemperatur[1]. In alkalischer Lösung wird Harnsäure durch übermangansaures Kali*) unter Aufnahme von einem Atom Sauerstoff und einem Molekül Wasser in Allantoïn und Kohlensäure umgewandelt, wenn die Temperatur niedrig bleibt. Dieselbe Zersetzung erhält man durch Einwirkung von Ferricyankalium, Kupferoxydhydrat und anderen oxydirenden Stoffen auf alkalische Lösung von Harnsäure; auch durch Eisenchlorid in höherer Temperatur wird wahrscheinlich unter Reduction des Eisenchlorids zunächst Allantoïn, dann Harnstoff und Oxalsäure gebildet.

Nachweis. Dem Nachweis der Harnsäure muss ihre Isolirung vorangehen. Hat man nach einem der oben angegebenen Verfahren eine mehr oder weniger deutlich krystallinische Abscheidung erhalten, so prüft man sie in folgender Weise:

1. Form und Farbe der Krystalle unter dem Mikroskop. Die Harnsäurekrystalle sind fast immer gelb bis dunkelbraun gefärbt, ihre Formen dagegen sehr wechselnd, Wetzstein-, Tonnenformen, rhombische Tafeln, gestreifte Prismen u. s. w.

2. Murexidprobe. Man bringt ein wenig der Substanz auf einen Porzellantiegeldeckel oder in eine kleine Porzellanschale, fügt ein paar Tropfen Salpetersäure hinzu, erhitzt und verdampft dann bei mässiger Wärme unter Blasen zur völligen Trockne. Besteht die Masse aus Harnsäure, so löst sie sich in der Salpetersäure und giebt beim Abdampfen eine gelbliche, beim völligen Trocknen eine rothe Masse, welche sich mit einem Tropfen Ammoniak prachtvoll purpurroth, mit einem Tropfen Alkalilauge blauviolett färbt. Jeder Ueberschuss von Ammoniak oder Alkalilauge ist ebenso zu vermeiden, wie zu starkes Erhitzen beim Abdampfen und Trocknen.

3. Alloxanreaction[2]. Man erhitzt eine Probe mit wenig verdünnter Salpetersäure bis zum Aufbrausen, verjagt vorsichtig die überschüssige Säure ohne bis zum Auftreten der Färbung zu trocknen und fügt zwei bis drei Tropfen conc. Schwefelsäure sowie einige Tropfen käuflichen (thiophenhaltigen) Benzols hinzu. Es entsteht blaue Färbung, welche nach Verdunsten des Benzols in Braun übergeht, dann auf Zusatz von Benzol wieder auftritt.

---

*) Unter bestimmten Bedingungen entsteht Uroxansäure [Sundwik, Zeitschr. f. physiol. Chemie. **20.** 335. (1895.)]

[1]) Nencki und Sieber, Journ. f. prakt. Chem. N. F. **24.** 493. (1881.)

[2]) Denigès, Journ. de pharm. et de chim. (5.) **18.** 161. (1888.)

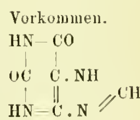
4. Zur Bestätigung lässt sich noch das Verhalten der Harnsäure gegen Natronlauge und gegen Ammoniak benutzen. Man löst eine nicht zu kleine Portion in wenig Natronlauge, filtrirt, wenn etwas ungelöst blieb, versetzt das Filtrat mit Chlorammonium im Ueberschusse und lässt, wenn nicht sofort ein Niederschlag entsteht, einige Zeit stehen. Es wird sich, wenn die Flüssigkeit nicht ausserordentlich verdünnt ist, eine flockige Abscheidung von saurem harnsaurem Ammoniak bilden, die in Ammoniak nicht löslich ist und auf Zusatz von überschüssiger Salzsäure sich allmählich in Krystalle freier Harnsäure umwandelt.

5. Auch das Verhalten der Harnsäure beim Erwärmen mit Natronlauge und wenig schwefelsaurem Kupferoxyd (siehe oben) kann man zur Bestätigung benutzen.

Vorkommen der Nucleïnbasen und allgemeine Reactionen.

124. Nucleïnbasen (Xanthin, Guanin, Hypoxanthin, Adenin). Diese vier Purinkörper, deren Beziehungen zu den Nucleïnstoffen von Kossel erkannt sind, zeigen eine allgemeine Verbreitung in den Geweben von Thieren und Pflanzen, werden aus allen entwickelungsfähigen Zellen, welche darauf untersucht sind, erhalten und sind zum Theil im freien Zustande in den Organen gefunden. Die Quantitäten, in denen sie präformirt gefunden werden, sind stets nur geringe, aber dieselben werden durch Behandlung der Organe in höherer Temperatur unter Einwirkung verdünnter Säuren gesteigert, indem durch Zerlegung der Nucleïnstoffe weitere Mengen derselben frei werden. Alle diese Nucleïnbasen werden durch ammoniakalische Silberlösung als Silberverbindungen, durch Kochen mit Kupfersulfat und Natriumbisulfit als Kupferoxydulverbindungen (Drechsel, Krüger[1]), sowie durch Fällungsmittel für Basen z. B. Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdänsäure, Kaliumquecksilberjodid, Kaliumwismuthjodid gefällt.

Vorkommen.



125. **Xanthin (2. 6-Dioxypurin) $C_5H_4N_4O_2$.** Xanthin findet sich in weiter Verbreitung in den Geweben (§ 124). Zuerst in menschlichen Blasensteinen (die sehr selten, aber dann wie es scheint, fast ausschliesslich aus Xanthin bestehen) aufgefunden, ist es in sehr kleiner Menge normalerweise im Harn vorhanden und in reinem Zustande zuerst von Krüger und Salomon[2]) aus ihm isolirt.

Darstellung.

Synthetisch wurde es von E. Fischer[3]) aus Trichlorpurin*) entweder durch Verwandlung des Trichlorids mit Natriumaethylat in das 2. 6-Diäthoxy-8-chlorpurin, welches durch Jodwasserstoff in Xanthin übergeführt wird oder durch Ueberführung des Trichlorids in Dijodpurin mittelst Jodwasserstoff bei 0° und nachträgliche Verwandlung dieses Dijodkörpers in Xanthin durch Erhitzen mit Salzsäure dargestellt. Die Angabe

*) Ueber die Darstellung des Trichlorpurins, das auch für die Synthese der andern Nucleïnbasen dient, siehe E. Fischer, Ber. d. d. chem. Ges. **30**. 2220 u. 2208. (1897.)

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie. **18**. 351. (1894) u. **20**. 170. (1895.)

[2]) Ebendas. **26**. 358. (1898—1899.)

[3]) Ber. d. d. chem. Ges. **30**. 2232. (1897) u. **31**. 2562. (1898.)

von Gautier[1]), es neben Methylxanthin und andern Stoffen beim Erhitzen von Blausäure mit Wasser und Essigsäure erhalten zu haben, bedarf sehr der Bestätigung. Man stellt es am Besten dar durch Einwirkung von Natriumnitrit auf Guanin in schwefelsaurer Lösung (Strecker, E. Fischer[2]). Ueber seine Isolirung aus Harn siehe § 136 und aus Organen siehe „Untersuchung der Organe."

Eigenschaften. Das Xanthin bildet in reinem Zustande ein farbloses Pulver, welches beim Reiben Wachsglanz annimmt; aus einer schwach alkalischen, sehr verdünnten, warmen Lösung scheidet es sich auf Zusatz von Essigsäure langsam in schönen, farblosen, makroskopischen Drusen ab, die mikroskopisch aus glänzenden rhombischen Blättchen bestehen. Die Krystalle enthalten 1 Mol. Wasser, das erst bei 125—130° entweicht (Horbaczewski[3]). In Wasser ist es sehr wenig löslich. Nach Almén[4]) löst sich 1 Theil bei 16° in 14151 Theilen, bei 100° in 1300—1500 Theilen Wasser. In Alkohol oder Aether ist es unlöslich. In Alkalilauge, auch in Ammoniak löst es sich leicht, beim Verdunsten der ammoniakalischen Lösung scheidet sich das Xanthin in Gruppen von Krystallblättchen aus. In kalter, verdünnter Salpetersäure ist es schwer löslich, ebenso in kalter, verdünnter Salzsäure, in dieser etwas leichter beim Erwärmen. Das salzsaure Xanthin bildet kleine Prismen, die sich mit Wasser zersetzen, auch das schwefelsaure Salz verliert Schwefelsäure bei der Behandlung mit Wasser. In der ammoniakalischen Lösung rufen Chlorzink oder Chlorcalcium Niederschläge hervor. Die wässrige wird durch essigsaures Kupferoxyd erst beim Kochen in gelbgrünen Flocken, durch Sublimat schon bei gewöhnlicher Temperatur gefällt, noch bei 30000facher Verdünnung entsteht Trübung. Vergl. auch § 124.

Silberverbindungen. Die concentrirte Lösung von Xanthin in Ammoniak wird von ammoniakalischer Lösung von salpetersaurem Silber gefällt; der gallertig flockige Niederschlag hat die Zusammensetzung $C_5H_4N_4O_2 . Ag_2O$. In heisser Salpetersäure löst sich dieser Niederschlag und beim Erkalten scheidet sich, wenn die Lösung verdünnt ist, nur sehr langsam das salpetersaure Xanthinsilberoxyd $C_5H_4N_4O_2 . AgNO_3$ in stark lichtbrechenden, kugligen Aggregaten kleiner Nadeln aus. Diese Verbindung ist in Salpetersäure schwer löslich.

Methylirung. Aus dem Xanthin entsteht durch Methylirung (Erhitzen von Xanthinblei mit Jodmethyl auf 100°) Theobromin (E. Fischer[5]), aus dem Theobromin durch weitere Methylirung Coffeïn (Strecker[6]). Beim Erwärmen mit chlorsaurem Kali und Salzsäure zerfällt es in Alloxan und Harnstoff

[1]) Bull. de la société chimique de Paris. **42**. 142. (1884.)
[2]) Ann. Chem. Pharm. **215**. 309. (1882.)
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **23**. 226. (1897.)
[4]) Journ. f. prakt. Chem. **96**. 98. (1865.)
[5]) Ann. Chem. Pharm. **215**. 311. (1882.) [6]) Ebendas. **118**. 170. (1861.)

(E. Fischer). Mit starker Salzsäure im geschlossenen Rohr über 200° erhitzt, zersetzt es sich in Ammoniak, Kohlensäure, Ameisensäure (resp. Kohlenoxyd und Wasser) und Glykocoll (E. Schmidt[1]). Zersetzungen.

Zum Nachweis dienen folgende Reactionen: Nachweis.

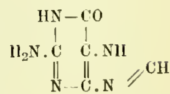
1. Xanthinprobe. Mit Salpetersäure abgedampft giebt eine Probe Xanthin einen gelben Rückstand, der durch Natronlauge roth und dann beim Erhitzen purpurroth gefärbt wird.

2. Weidel'sche Probe*). Kocht man eine kleine Menge von Xanthin mit frischem Chlorwasser oder Salzsäure und wenig chlorsaurem Kali, verdunstet dann auf dem Wasserbad zur Trockne und bringt den weissen oder schwach gelben Rückstand unter einer Glasglocke in eine Ammoniakathmosphäre, so färbt er sich in kurzer Zeit dunkelrosenroth (Murexidreaction[2]).

3. Bringt man auf einem Uhrglase etwas Chlorkalk in Natronlauge, rührt um und trägt eine Probe Xanthin ein, so bildet sich um die Körnchen desselben zuerst ein dunkelgrüner, bald sich braun färbender Hof, der dann wieder verschwindet.

In zweifelhaften Fällen, besonders zur sichern Unterscheidung von synthetischen Producten empfiehlt E. Fischer[3]) die Umwandlung in Bromxanthin und Bromcoffeïn.

126. **Guanin (2-Amino-6-Oxypurin) $C_5H_5N_5O$.** Guanin findet sich in weiter Verbreitung in den Geweben (§ 124). Ausserdem ist es der hauptsächliche Bestandtheil der Excremente von Spinnen und in wechselnder, aber nicht bedeutender Menge im Peruguano vorhanden. Im menschlichen Harne ist es bis jetzt nicht mit Sicherheit nachgewiesen. Häufig treten körnige Ablagerungen von Guanin in den Muskeln kranker Schweine, ebenso in ihren Gelenken und Bändern auf[4]). Guanin findet sich als irisirende Krystalle in den Fischschuppen und der Fischblase[5]), auch im Retinaepithel von Fischen ist es reichlich gefunden. Die Ophthalmolithen von delle Chiaje in verschiedenen Fischen enthalten Guaninkalk wie die weissen Krystalle der Fischschuppen u. s. w.[6]). Vorkommen.



Die synthetische Darstellung gelang E. Fischer[7]) durch Umwandlung von Trichlorpurin durch Erhitzen mit Kalilauge in 6-Oxy-2.8-Dichlor- Darstellung.

---

*) Diese Reaction stammt, wie E. Fischer nachgewiesen hat, nicht von Weidel. Ber. d. d. chem. Ges. **30**. 223. (1897.)

[1]) Ann. Chem. Pharm. **217**. 308. (1883.)

[2]) Kossel, Zeitschr. f. physiol. Chem. **6**. 426. (1882), E. Fischer a. a. O.

[3]) Ber. d. d. chem. Ges. **31**. 2563. (1898.)

[4]) Virchow, Arch. f. pathol. Anat. **35**. 358 (1866) u. **36**. 147 (1866).

[5]) Voit, Zeitschr. f. wiss. Zool. **15**. 4. Heft. 1865 u. Bethe, Zeitschr. f. physiol. Chem. **20**. 472. (1895.)

[6]) Kühne und Sewall, Unters. a. d. physiol. Inst. zu Heidelberg. Th. 3. S. 221. (1880.) Krukenberg und Ewald, Ebendas. Th. 4. S. 253. (1881.)

[7]) Ber. d. d. chem. Ges. **30**. 2251. (1897.)

purin, Ueberführung dieses letzteren durch Erhitzen mit alkoholischem Ammoniak in Chlorguanin und Reduction des Chlorguanins durch Jodwasserstoff. Eine andere Synthese von der Cyanessigsäure aus hat Traube[1]) angegeben. Um aus dem Peruguano Guanin zu gewinnen, kocht man denselben mit verdünnter Kalkmilch aus, so lange die abfiltrirte Flüssigkeit noch gefärbt erscheint, und darauf mit Sodalösung, so lange diese etwas aufnimmt. Beim Uebersättigen der filtrirten Flüssigkeit mit Essigsäure scheidet sich das Guanin mit etwas Harnsäure aus. Der entstandene Niederschlag wird mit verdünnter Salzsäure zum Kochen erhitzt, filtrirt und im Filtrate das Guanin durch Ammoniak gefällt. Ueber die Isolirung des Guanins aus Organen siehe „Untersuchung der Organe".

Eigenschaften. Das Guanin bildet ein farbloses, gewöhnlich amorphes, in Wasser, Alkohol, Aether unlösliches, in Ammoniak schwer lösliches Pulver. In Alkalien löst es sich leicht, ebenso in Mineralsäuren, auch in verdünnten. Versetzt man eine sehr verdünnte, warme Lösung von Guanin in Lauge mit ungefähr $^1/_3$ Volumen Alkohol und überschüssiger Essigsäure, so scheidet es sich in ziemlich grossen, makroskopischen, krystallwasserfreien Drusen (mikroskopisch den Kreatininchlorzinkkrystallen ähnlich) aus (Horbaczewski[2]). Es verbindet sich mit Basen, ebenso mit Säuren, und zwar mit einem oder zwei Aequivalenten. Die Salze zerlegen sich im Allgemeinen leicht in wässeriger Lösung.

Salze. Das einfach salzsaure Salz bildet eine Doppelverbindung mit Platinchlorid. Das Sulfat $2C_5H_5N_5O \cdot H_2SO_4$ krystallisirt mit 2 Mol. Wasser, die bei 120° entweichen und unterscheidet sich dadurch von dem ihm sehr ähnlichen Sulfat des synthetischen 6-Amino-2-Oxypurins, das mit einem bei 120° nicht entweichenden Mol. Wasser krystallisirt (E. Fischer[3]). (Letzteres ist zwar bisher im Körper nicht gefunden, könnte aber als Oxydationsproduct des Adenins wohl vorkommen.) Durch Metaphosphorsäure wird Guanin fast quantitativ gefällt als $C_5H_5N_5O \cdot HPO_3 + xH_2O$. Diese Verbindung ist im Gegensatz zu den meisten anderen Salzen des Guanins, die leicht dissociiren, sehr beständig und in Wasser und verdünnten Säuren äusserst wenig löslich (Wulff[4]). (Hypoxanthin wird nicht gefällt, Adeninmetaphosphat löst sich im Ueberschuss des Fällungsmittels.) Pikrinsäure ruft auch in noch sehr verdünnten Lösungen von Guaninsalzen je nach der Verdünnung sofort oder allmählich einen Niederschlag goldgelber, in kaltem Wasser fast unlöslicher Krystalle $C_5H_5N_5O \cdot C_6H_2(NO_2)_3OH + H_2O$ hervor (Capranica[5]), Wulff). (Adenin giebt eine ähnliche Fällung, Xanthin und Hypoxanthin geben leicht oder leichter lösliche Pikrate.)

[1]) Ber. d. d. chem. Ges. **33**. 1371. (1900.)
[2]) Zeitschr. f. physiol. Ch. **23**. 226. (1897.)
[3]) Ber. d. d. chem. Ges. **30**. 2247. (1897.)
[4]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **17**. 468. (1893.)
[5]) Ebendas. **4**. 233. (1880.)

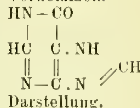
Versetzt man eine solche heisse Lösung, bevor sich das Guaninpikrat abscheidet, mit Silbernitrat, so bildet sich sofort ein citronengelber, amorpher Niederschlag $C_5H_4AgN_5O \cdot C_6H_2(NO_2)_3OH + 1^1/_2H_2O$ (Wulff). Durch Silbernitrat wird Guanin in salpetersauren Lösungen gefällt als $C_5H_5N_5O \cdot AgNO_3$, in kalter Salpetersäure fast unlöslich, in kochender schwer löslich, sich beim Erkalten in Nadeln ausscheidend. Silberverbindungen.

Ferricyankalium in conc. Lösung giebt mit sehr verdünnten Guaninsalzlösungen prismatische Krystalle von gelbbrauner Farbe, die in warmem Wasser löslich sind (Capranica, Wulff). (Xanthin und Hypoxanthin geben keinen Niederschlag.) Auf Zusatz von Kupfersulfat und Natriumhyposulfit fällt es schon in der Kälte als Kupferoxydulverbindung (Krüger[1]). Vergl. auch § 124. Ueber weitere Verbindungen des Guanins siehe Wulff a. a. O. Andere Verbindungen.

Salpetrige Säure wandelt es in Xanthin um, ebenso Fäulniss (Schindler[2]). Durch Salzsäure und Kaliumchlorat wird es zu Kohlensäure, Parabansäure und Guanidin umgewandelt. Mit starker Salzsäure im Rohr erhitzt, erfährt es die gleiche Zersetzung wie Xanthin (Wulff[3]). Zersetzungen.

Nachweis. Das Guanin giebt die Xanthinprobe (siehe § 125), nur mit dem Unterschied, dass die Färbung braunroth und beim Erhitzen mehr blauviolett ist. Zur Unterscheidung von Xanthin und Hypoxanthin dient das beschriebene Verhalten gegen Pikrinsäure und Ferricyankalium (Reactionen von Capranica), zur Unterscheidung von Hypoxanthin und Adenin das Verhalten gegen Metaphosphorsäure. Zur Erkennung unter dem Mikroskop eignet sich das salzsaure Salz, welches in langen, büschelförmig angeordneten Krystallen anschiesst, sowie das Verhalten dieser Krystalle in polarisirtem Licht[4]). Nachweis.

127. **Hypoxanthin (Sarkin, 6-Oxypurin)** $C_5H_4N_4O$. In den Geweben kommt es in weiter Verbreitung vor (§ 124). Im normalen Harn finden sich geringe Mengen (Salomon[5]). Vorkommen.



Synthetisch wurde es von E. Fischer[6]) durch Ueberführung des Trichlorpurins mittelst Alkali in 6-Oxy-2.8-Dichlorpurin und Reduction dieses Körpers mit Jodwasserstoff erhalten. Man gewinnt es durch Einwirkung von Kaliumnitrit auf Adenin in schwefelsaurer Lösung (Kossel[7]). Ueber die Isolirung aus Harn siehe § 136, aus Organen siehe „Untersuchung der Organe“. Darstellung.

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **18**. 355. (1894.)
2) Ebendas. **13**. 441. (1889.) 3) Ebendas. **17**. 473. (1893.)
4) Behrens, Schiefferdecker u. Kossel, Das Mikroskop etc. 1889. S. 280.
5) Zeitschr. f. physiol. Chem. **11**. 410. (1889.)
6) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **30**. 2227. (1897).
7) Zeitschr. f. physiol. Chem. **10**. 258. (1886.)
Krüger, Ebendas. **18**. 444. (1894.)

Eigenschaften. Es bildet farblose, mikroskopische Krystalle, löst sich nach E. Fischer bei 19° in etwa 1400 Th. Wasser, in etwa 70 Th. kochendem Wasser, fast gar nicht in Alkohol. In selbst sehr verdünnter Alkalilauge, Ammoniak und verdünnten Mineralsäuren wird es leicht gelöst, auch in conc. Schwefel- oder Salpetersäure. Es verbindet sich mit Basen, Säuren oder Salzen zu theilweise gut krystallisirenden Körpern. In verdünntem Barytwasser gelöst giebt es bei Zusatz von conc. Barytlösung einen krystallinischen Niederschlag $C_5H_4N_4O.Ba(OH)_2$.

Salze. Das salzsaure Salz $C_5H_4N_4O.HCl + H_2O$ scheidet sich beim raschen Eindampfen in kleinen, wetzsteinförmigen Krystallen, beim langsamen Verdunsten in glashellen Krystallen ab. Ebenso wie die übrigen Salze des Hypoxanthins zersetzt es sich beim Umkrystallisiren. Fügt man zu der heissen Lösung des salzsauren Salzes Platinchlorid, so krystallisirt beim Erkalten das Platindoppelsalz $(C_5H_4N_4O.HCl)_2.PtCl_4$ aus. In heisser verdünnter Salpetersäure gelöstes Hypoxanthin scheidet sich beim Erkalten in wetzsteinförmigen Krystallen $C_5H_4N_4O.HNO_3 + H_2O$ ab, die in Wasser leicht, in Salpetersäure schwer löslich sind (Krüger und Salomon[1]). Aus Hypoxanthinlösungen scheiden sich auf Zusatz von Pikrinsäure je nach Concentration der Lösung schneller oder langsamer gelbe, glänzende, tafelförmige Krystalle von Hypoxanthinpikrat mit 1 Mol. Wasser ab, die in Wasser im Verhältniss von 1 : 400 bis 500 löslich sind (Wulff[2]), (Krüger und Salomon[3]).

Silberverbindungen. Beim Zusammenbringen einer siedenden Lösung von Hypoxanthinpikrat mit neutralem oder nur schwach saurem salpetersaurem Silber bildet sich ein citronengelber Niederschlag von Hypoxanthinsilberpikrat $C_5H_3AgN_4O.C_6H_2(NO_2)_3OH$, der das Hypoxanthin fast quantitativ enthält (Bruhns[4]). Versetzt man Hypoxanthinlösungen mit ammoniakalischer Silberlösung in der Siedetemperatur, so entsteht ein Niederschlag von der Zusammensetzung $C_5H_2Ag_2N_4O + H_2O$, der mehrere Stunden bei 120° getrocknet in die Verbindung $C_5H_2Ag_2N_4O + 1/2\,H_2O$ übergeht. Durch Silbernitrat allein werden wässerige Hypoxanthinlösungen ebenfalls gefällt, aber der entstehende Niederschlag hat keine constante Zusammensetzung, sondern stellt ein wechselndes Gemenge der Verbindungen $C_5H_4N_4O.AgNO_3$ und $C_5H_4N_4O.2\,AgNO_3$ dar. Behandelt man dasselbe mit Ammoniak (auch in der Kälte geht die Einwirkung leicht vor sich), so entsteht die Verbindung $C_5H_2Ag_2N_4O + 3\,H_2O$ und fügt man bei der Behandlung gleich überschüssiges Silbernitrat hinzu und trocknet bei 120°, so bildet sich quantitativ die ganz constant zusammengesetzte Verbindung $C_5H_2Ag_2N_4O + 1/2\,H_2O$ (Bruhns).

---

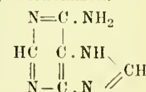
1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **26**. 362. (1898—1899.)
2) Ebendas. **17**. 505. (1893.)
3) Ebendas. **24**. 386. (1898.) u. a. a. O.
4) Ebendas. **14**. 533. (1890.)

Die Verbindungen mit Zinkoxyd und Quecksilberoxyd sind in Wasser unlöslich; beim Versetzen einer Hypoxanthinlösung mit Quecksilberchlorid im Ueberschuss entsteht ein schwerer Niederschlag von der Zusammensetzung $C_5H_3N_4OHg_2Cl_3 + H_2O$ oder $^1/_2\,H_2O$ (Bruhns). Beim Kochen mit essigsaurem Kupfer erhält man Hypoxanthinkupferoxyd als graubraunen Niederschlag. Durch Kupfersulfat und Natriumhyposulfit werden selbst 0,5proc. Lösungen in der Kälte nicht gefällt (Krüger[1]). Durch basisch essigsaures Blei wird reines Hypoxanthin nicht gefällt, aber durch Bleiacetat und Ammoniak. (Vergl. auch § 124.) Ueber weitere Verbindungen und Substitutionsproducte siehe bei Krüger[2]). Mit Aetznatron und Aethylchlorocarbonat behandelt giebt das Hypoxanthin das Urethan desselben (Kossel[3]). Beim Zusammenbringen von gleichen Theilen von Hypoxanthin und Adenin in heisser wässeriger Lösung scheiden sich beide Körper mit einander verbunden als schleimige, später kreideartige Masse aus (Bruhns). Andere Verbindungen.

Mit schmelzendem Kali auf 200° erhitzt liefert das Hypoxanthin Blausäure und Ammoniak (Kossel[4]). Zersetzungen.

Nachweis. Die Xanthinprobe und die Weidel'sche Probe (§ 125) fallen negativ aus, dagegen gilt eine von Kossel für das Adenin angegebene Reaction auch für das Hypoxanthin, siehe § 128. Nachweis.

128. **Adenin (6-Aminopurin)** $C_5H_5N_5$. Es kommt in weiter Verbreitung in den Geweben vor (§ 124). Zuerst wurde es von Kossel[5]) aus dem Pancreas gewonnen. In kleinen Mengen ist es im Harn vorhanden (Krüger und Salomon[6]). Vorkommen.



Synthetisch wurde es von E. Fischer[7]) durch Ueberführung des Trichlorpurins durch Erhitzen mit Ammoniak in 6-Amino-2.8-Dichlorpurin und Reduction dieses Körpers mit Jodwasserstoff erhalten. Zu seiner Darstellung benutzt man am besten Theelauge[8]). Ueber seine Isolirung aus Harn siehe § 136, aus Organen siehe „Untersuchung der Organe". Darstellung.

Adenin bildet farblose, lange, nadelförmige Krystalle mit 3 Mol. Krystallwasser oder wasserfreie, wetzsteinförmige Krystalle; die ersteren werden Eigenschaften.

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **18**. 355. (1894.)
2) Ebendas. **18**. 423. (1894.) 3) Ebendas. **16**. 1. (1892.)
4) Ebendas. **6**. 429. (1882.)
5) Ebendas. **10**. 250. (1886.) u. **12**. 241. (1888.)
Thoiss u. Kossel, Ebendas. **13**. 395. (1889.)
Schindler, Ebendas. **13**. 432. (1889.)
Bruhns, Ebendas. **14**. 533. (1890.)
Bruhns u. Kossel, Ebendas. **16**. 1. (1892.)
Krüger, Ebendas. **16**. 160 u. 329. (1892.) u. **18**. 423. (1894.)
Wulff, Ebendas. **17**. 468. (1893.)
6) Zeitschr. f. physiol. Chem. **24**. 364. (1898.)
7) Ber. d. d. chem. Ges. **30**. 2238. (1897.)
8) Krüger, Zeitschr. f. physiol. Chem. **21**. 274. (1895—1896.)

schon beim Liegen an der Luft, schneller beim Erwärmen undurchsichtig. Bringt man einige Krystalle in eine zur Lösung ungenügende Menge Wasser und erwärmt langsam, so sieht man bei 53° plötzlich Trübung der Krystalle auftreten (charakteristische Reaction). Es sublimirt bei 220° und zersetzt sich bei 250° theilweise. Beim raschen Erhitzen im Capillarrohr schmilzt es plötzlich bei 360—365° unter starker Gasentwicklung, nachdem vorher leichte Bräunung eingetreten war. Es löst sich bei Zimmertemperatur in 1086 Theilen Wasser, leicht in heissem Wasser; die wässerige Lösung reagirt neutral. Es ist unlöslich in Aether, Chloroform, löslich in Eisessig, etwas löslich in heissem Alkohol. In Mineralsäuren, auch in Essigsäure wird es leicht gelöst, ebenso in Kali- oder Natronlauge, bei der Neutralisation fällt es wieder aus. In wässerigem Ammoniak ist es leichter löslich als Guanin, schwerer als Hypoxanthin. Mit sehr verdünnter Ammoniaklösung auf dem Wasserbade erwärmt geht es völlig in Lösung. Wird eine saure Lösung von Adenin mit kohlensaurem Natron übersättigt, so scheidet es sich ausserordentlich langsam aus. Es verbindet sich mit Säuren, Basen und mit Salzen.

Salze. Die schwefelsaure, salzsaure und salpetersaure Verbindung krystallisiren und zwar die erstere mit 2 Mol., die übrigen mit je $1/2$ Mol. Krystallwasser. Das Sulfat löst sich in 153 Thl. Wasser, das Chlorhydrat in 41,9, das Nitrat in 110,6 Thl. Wasser. Sulfat und Chlorhydrat können umkrystallisirt werden, ohne dabei wie die entsprechenden Verbindungen des Hypoxanthins und des Guanins ihre Säure zu verlieren. Das aus neutralen und schwach sauren Lösungen durch Metaphosphorsäure ausgefällte amorphe Adeninmetaphosphat löst sich in einem grösseren Ueberschuss der Säure (Wulff). Aus verdünnten Lösungen von salzsaurem Adenin fällt Platinchlorid nach einiger Zeit gelbe Nadeln $2(C_5H_5N_5 . HCl) . PtCl_4$. Kocht man eine Lösung dieses Salzes längere Zeit, so fällt ein gelbes Pulver $C_5H_5N_5 . HCl . PtCl_4$ aus, welches in kaltem Wasser sehr wenig löslich ist. Setzt man zu einer Lösung von salzsaurem Adenin Goldchlorid, so scheidet sich Adeningoldchlorid $C_5H_5N_5 . (HCl)_2 . AuCl_3 + H_2O$ zum Theil in blattförmigen Aggregaten, zum Theil in würfelförmigen oder prismatischen Krystallen oft mit abgestumpften Ecken und von ansehnlicher Grösse ab. Dieser Niederschlag ist zur Erkennung, auch zur mikroskopischen, gut geeignet, weil die anderen Nucleïnbasen keine derartigen krystallinischen Goldverbindungen geben. Aus conc. Lösung von salzsaurem Adenin fällt auf Zusatz von Goldchlorid ein Golddoppelsalz von anderer Zusammensetzung in gelben, nadelförmigen Krystallen aus (Krüger und Salomon[1]).

Salze mit organischen Säuren. Das Oxalat scheidet sich in voluminösen, rundlichen Massen ab und unterscheidet sich hierdurch sowie durch sein geringes Lösungs-

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **24**. 393. (1898.)

vermögen von den entsprechenden Salzen des Hypoxanthins, Xanthins und Guanins. Wässerige Adeninlösungen werden (bei Abwesenheit von Natriumphosphat) durch Pikrinsäure gefällt, der Niederschlag besteht aus büschelförmig gruppirten Nadeln, die 1 Mol. Krystallwasser enthalten, und beim Umkrystallisiren aus heissem Wasser sich als dunkelgelbe, wasserfreie, makroskopische Prismen abscheiden (Krüger und Salomon[1]). Die Löslichkeit in Wasser, auf wasserfreies Salz berechnet, ist 1 : 3500 Thl. Sonach eignet sich diese Verbindung sowohl zum Nachweis des Adenins wie zur quantitativen Bestimmung und zur Trennung von Hypoxanthin, für letzteren Zweck aber nur dann, wenn man einen Ueberschuss des Fällungsmittels vermeidet, das Adeninpikrat alsbald nach der Fällung abfiltrirt und die Hypoxanthinlösung nicht zu concentrirt ist (Wulff).

Adeninpikrat in heisser Lösung giebt mit salpetersaurem Silber einen Niederschlag von Adeninsilberpikrat $C_5H_4AgN_5 \,.\, C_6H_2(NO_2)_3OH + H_2O$. Versetzt man eine ammoniakalische Adeninlösung mit ammoniakalischer Silberlösung, so entsteht ein Niederschlag von der Zusammensetzung $C_5H_4AgN_5$, wenn die Quantität des hinzugefügten Silbers ungefähr einem Atom Silber auf ein Mol. Adenin entspricht, von der Zusammensetzung $C_5H_3Ag_2N_5 + H_2O$ hingegen, wenn beträchtlicher Silberüberschuss angewandt wird. Löst man Adeninsilber in heisser Salpetersäure, so scheiden sich beim Erkalten nadelförmige Krystalle aus, welche keine constante Zusammensetzung haben und offenbar Gemenge von $C_5H_5N_5 \,.\, AgNO_3$ und $C_5H_5N_5 \,.\, 2\,AgNO_3$ sind. Silberverbindungen.

Die wässerige Lösung des Adenins giebt einen Niederschlag mit alkoholischer Chlorzinklösung, ebenso mit Quecksilberchlorid und zwar entsteht in der Hitze eine weisse, körnige Fällung von $C_5H_4N_5HgCl$, in der Kälte eine weisse, flockige Fällung $C_5H_4N_5Hg_2Cl_3$; Niederschläge entstehen ferner mit Quecksilbernitrat, Kupfersulfat, Cadmiumchlorid, Ferro- und Ferrikaliumcyanid nach Zusatz von Essigsäure. Kupfersulfat und Natriumhyposulfit fällen Adenin noch aus sehr verdünnter Lösung in der Kälte als Kupferoxydulverbindung (Krüger[2]). Basisches Bleiacetat giebt keine Fällung, ebenso wenig Bleiacetat und Ammoniak. Vergl. auch § 124. Andere Verbindungen.

Gegen Säuren und Alkalien, auch gegen Oxydationsmittel ist das Adenin sehr widerstandsfähig. Durch salpetrige Säure ebenso durch Fäulniss bei Luftabschluss wird es in Hypoxanthin übergeführt. Beim Erhitzen mit Kali im Oelbade auf 200° bildet sich reichliche Menge von Blausäure. Bei der Reduction mit Zink und Salzsäure auf dem Wasserbade geht es in einen Körper über, der höchst wahrscheinlich Azulminsäure ist. Zersetzungen.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **24**. 392. (1898.)
[2]) Ebendas. **18**. 355. (1894.)

Mit Salzsäure im zugeschmolzenen Glasrohr auf 180—200° erhitzt zerfällt es in Ammoniak, Kohlensäure, Ameisensäure und Glykocoll.

Nachweis. Zum Nachweis dienen folgende Reactionen. Die Xanthinprobe (§ 125) und die Weidel'sche Probe (§ 125) sind negativ, dagegen ist folgendes von Kossel beobachtete Verhalten charakteristisch. Adenin wird eine halbe Stunde im Reagensglase mit Zink und Salzsäure im Wasserbad erwärmt; während dessen tritt eine vorübergehende schöne Purpurfärbung auf (E. Fischer); die filtrirte und mit Natronlauge stark alkalisch gemachte Flüssigkeit färbt sich beim Stehen an der Luft langsam, schneller beim Schütteln anfangs rubinroth, später braunroth (Azulminsäure). Hypoxanthin giebt dieselbe Reaction (nur sind die Farbenerscheinungen schwächer), Guanin nicht. Zur Erkennung kann auch das Verhalten der Krystalle beim Erwärmen (siehe oben) und das mikroskopische Verhalten des Golddoppelsalzes benutzt werden.

Vorkommen. 129. **Carnin** $C_7H_8N_4O_3$ wurde von Weidel[1]) im Fleischextract gefunden. Nach Krukenberg und Wagner[2]) ist es in den Muskeln einiger Süsswasserfische und im Froschfleische vorhanden. Sein Vorkommen im Harn ist bisher nicht bewiesen. v. Lippmann[3]) wies es im Rübensaft nach.

Darstellung. Zur Darstellung aus Fleischextract nach Weidel fällt man die wässerige Lösung mit Barytwasser und das Filtrat mit Bleiessig aus. Der abfiltrirte Bleiniederschlag wird mit Wasser ausgekocht, das heisse Filtrat durch Einleiten von Schwefelwasserstoff und Filtration von Blei befreit und auf ein kleines Volumen eingedampft. Beim Erkalten scheidet sich das Carnin zuweilen schon als krümliger, noch sehr gefärbter Krystallschlamm aus. Die event. filtrirte Flüssigkeit wird mit einer conc. Silbernitratlösung ausgefällt, der Niederschlag, welcher Chlorsilber und Carninsilberoxyd enthält, mit Wasser gewaschen, durch nicht zu viel Ammoniakflüssigkeit vom Chlorsilber befreit und in heissem Wasser zertheilt. Leitet man nun Schwefelwasserstoff ein, filtrirt heiss und dampft ein, so scheidet sich das Carnin ab; beim Entfärben mit Thierkohle bleibt ein Theil in dieser zurück. Ausbeute ungefähr 1 pCt. des Fleischextracts.

Eigenschaften. Das Carnin bildet kreideweisse, feine und unregelmässig begrenzte krystallinische Massen, welche bei 230° sich bräunen und bei 239° verkohlen. Es löst sich schwer in kaltem, leicht in heissem Wasser, ist nicht löslich in Alkohol oder Aether. Die wässerige Lösung reagirt neutral, wird nicht gefällt durch neutrales essigsaures Blei, Pikrinsäure, salpetersaures Quecksilber, wohl aber von basischem Bleiacetat, wenn die Lösung nicht neutrales Bleisalz enthält. Eine Lösung von Carnin in warmer, starker

---

1) Ann. Chem. Pharm. **158**. 353. (1871.)

2) Sitzungsber. d. Würzburg. phys. med. Gesellsch. 1883. S. 58.

3) Ber. d. d. chem. Ges. **29**. 2645. (1896.)

Salzsäure liefert beim Erkalten bald glasglänzende Nadeln von salzsaurem Carnin; löst man diese Nadeln in warmem Wasser, so scheiden sie sich zuerst als schlammiger Niederschlag aus, der allmählich wieder jene Nadeln liefert. Platinchlorid bewirkt in der salzsauren Lösung goldgelben, krystallinischen Niederschlag $C_7H_8N_4O_3 . HCl . PtCl_4$. (Krukenberg und Wagner erhielten makroskopische Octaëder). Salpetersaures Silber fällt Carnin flockig weiss, der Niederschlag ist unlöslich in Salpetersäure und in Ammoniak und besteht aus $2 C_7H_7AgN_4O_3 + AgNO_3$ mit 41,82 pCt. Silbergehalt. Aus einer Lösung in Alkali wird es durch Fehling'sche Lösung und salzsaures Hydroxylamin als Kupferoxydulsalz gefällt (Balke[1]).

Zersetzungen.

Durch Kochen mit Barytwasser wird Carnin nicht zersetzt, auch nicht beim Erhitzen mit concentrirtem Jodwasserstoff. Behandelt man eine heisse Lösung von Carnin mit gesättigtem Bromwasser, so zeigt sich unter Entfärbung Gasentwickelung und nach überschüssig zugesetztem Bromwasser erhält man nach dem Abdampfen und Erkalten bromwasserstoffsaures Hypoxanthin als weisses Krystallmehl. $C_7H_8N_4O_3 + Br_2 = C_5H_4N_4O . HBr + CH_3Br + CO_2$.

Nachweis.

Für den Nachweis besonders geeignete Reactionen sind nicht bekannt, auch die Weidel'sche Probe (§ 125) fällt bei reinem Carnin negativ aus.

130. 1-Methylxanthin, Heteroxanthin, Paraxanthin, Epiguanin und Episarkin sind fast ausschliesslich im Harn gefunden und vermuthlich als Umwandlungsproducte mit der Nahrung (Kaffee, Thee, Kakao) eingeführter Purinkörper (Coffeïn, Theobromin u. a.) aufzufassen. Coffeïn, Theobromin, Theophyllin, 3-Methylxanthin sind im Harn von Menschen, Hunden und Kaninchen nur nach Eingabe grösserer Dosen Coffeïn resp. Theobromin gefunden worden.

Vorkommen.

```
CH3 . N — CO
      |    |
     OC    C . NH
      |    ||       \\
     HN —  C . N  // CH
```

131. **1-Methylxanthin** $C_6H_6N_4O_2$ wurde von Krüger und Salomon[2]) im menschlichen Harn, in dem es in kleiner Menge vorkommt, entdeckt und findet sich auch im Harn von Kaninchen nach Eingabe von Paraxanthin und Coffeïn (Krüger[3]). Okerblom[4]) gewann es aus Nebennieren.

Synthetisch ist es noch nicht dargestellt. Ueber die Isolirung aus Harn siehe § 136.

Eigenschaften.

Es scheidet sich aus Wasser als farbloses Krystallpulver (mikroskopische, gleichförmige Rosetten) ab, beim Eindampfen seiner salzsauren oder ammoniakalischen Lösungen in lockeren Massen von irisirendem Glanze. Am besten krystallisirt es aus essigsaurer Lösung und zwar in dünnen, sechsseitigen, seltener vierseitigen Blättchen (Krüger[5]). In kaltem Wasser ist es schwer löslich, aber erheblich leichter als Xanthin; leicht löslich in Ammoniak und Natronlauge, verdünnten Säuren, auch in Salpetersäure (Unterschied von Xanthin). Es bildet keine schwerlösliche Natriumverbindung wie Heteroxanthin, kein schwer lösliches Barytsalz wie 3-Methylxanthin. Das salzsaure

---

[1]) Journ. f. prakt. Ch. N. F. **47**. 547. (1893.)

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **24**. 364. (1898) u. **26**. 350. (1898—1899.)

[3]) Ber. d. d. chem. Ges. **32**. 2680 u. 3336. (1899.)

[4]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **28**. 60. (1899.)

[5]) Ber. d. d. chem. Ges. **33**. 3665. (1900.)

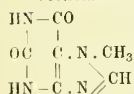
Salz krystallisirt in schönen, glasglänzenden, rhombischen Blättchen und Säulen. Die Salze werden ebenso wie Xanthin- und Heteroxanthinsalze durch Wasser leicht dissociirt. Golddoppelsalz glänzende rhombische Säulen, Chloroplatinat sternförmig gruppirte Nadeln oder Prismen. Durch Ammoniak und Silbernitrat wird es gelatinös gefällt. Das 1-Methylxanthinsilbernitrat scheidet sich aus Salpetersäure in zu Rosetten vereinigten Nädelchen aus, genau wie die entsprechende Xanthinverbindung und ist auch wie diese in Salpetersäure schwer löslich. Kupfersulfat und Natriumbisulfit fällen schon in der Kälte, Kupfersulfat und Thiosulfat nur in der Wärme die Kupferoxydulverbindung. Bei der Methylirung geht es in Theophyllin und Coffeïn über.

Methylirung.

Nachweis.

Nachweis. Die Xanthinprobe (§ 125) fällt positiv aus, auf Zusatz von Natronlauge tritt eine Orangefärbung ein, die Weidel'sche Reaction (§ 125) ebenfalls positiv[1].

Vorkommen.



132. **Heteroxanthin (7-Methylxanthin)** $C_6H_6N_4O_2$ wurde zuerst von Salomon[2] aus Menschenharn, dann auch aus Hundeharn gewonnen. Eingegebenes Theobromin[3] erscheint im Harn von Menschen, Hunden und Kaninchen, eingegebenes Coffeïn[4]) im Harn von Kaninchen z. Th. als Heteroxanthin.

Synthetisch wurde es von E. Fischer[5] aus Theobromin gewonnen. Ueber die Isolirung aus Harn siehe § 136.

Eigenschaften.

Es ist ein weisses Pulver, krystallisirt in zu Rosetten vereinigten Nädelchen. Beim raschen Erhitzen im Capillarrohr beginnt es über 360° zu sintern und sich zu färben und schmilzt erst gegen 380° unter Gasentwicklung. Es löst sich sehr schwer in kaltem, viel leichter in heissem Wasser (1 Th. in 142 Th.) mit neutraler Reaction, ist unlöslich in Alkohol oder Aether, leicht löslich in Ammoniak und in überschüssiger, heisser Salzsäure; es giebt mit Salzsäure eine in langen Nadeln krystallisirende, schwer lösliche Verbindung, die schon durch kaltes Wasser zersetzt wird. Noch schwerer löslich ist das salpetersaure Salz, welches aus 10 proc. Salpetersäure ziemlich schnell auskrystallisirt. Auf Zusatz von Platinchlorid zur salzsauren Lösung entsteht ein krystallisirendes Doppelsalz. Löst man salzsaures Heteroxanthin in erwärmter verdünnter Natronlauge, so scheiden sich nach dem Erkalten glitzernde Krystalle aus, meist schiefwinklige Tafeln (häufig Zwillingskrystalle) von Heteroxanthinnatrium (lufttrocken mit 5 Mol. Wasser). Die heisse wässerige Lösung scheidet beim Durchleiten von Kohlensäure oder auf Zusatz von Essigsäure Heteroxanthin krystallinisch aus. Sowohl salpetersaure als ammoniakalische Lösungen werden durch salpetersaures Silber gefällt, die Niederschläge lösen sich leicht beim Erwärmen schon in sehr verdünnter Salpetersäure und aus der Flüssigkeit scheidet sich nach dem Einengen salpetersaures Heteroxanthinsilber in kleinen, rhombischen Blättchen und Prismen ab. Diese Verbindung ist in Salpetersäure schwer löslich, aber leichter als die entsprechende Xanthinverbindung. Durch Kupfersulfat und Natriumbisulfit wird es als Kupferoxydulverbindung gefällt, bei schwachem Erwärmen auch aus sehr verdünnter Lösung, durch Kupfersulfat und Natriumthiosulfat erst beim Erwärmen. Kupferacetat, Phosphorwolframsäure, basisches Bleiacetat und Ammoniak, Quecksilberchlorid schon in geringer Menge rufen Niederschläge hervor. Pikrinsäure giebt keinen Niederschlag.

Zersetzung.

Beim Erhitzen mit conc. Salzsäure im zugeschmolzenen Rohr auf 180—200° zer-

---

1) Näheres über diese Reaction Zeitschr. f. physiol. Chem. **24**. 382. (1898.)

2) Ber. d. d. chem. Ges. **18**. 3407. (1885.)
Zeitschr. f. physiol. Chem. **11**. 412. (1887.)

3) Bondzyński u. Gottlieb, Arch. f. exp. Path u. Pharm. **36**. 45. (1895.)
Krüger u. Schmidt, Ber. d. d. chem. Ges. **32**. 2677. (1899.)
Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **45**. 259. (1901.)

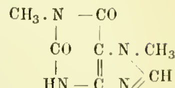
4) Krüger, Ber. d. d. chem. Ges. **32**. 3336. (1899.)

5) Ebendas. **30**. 2400. (1897.)

fällt es in Kohlensäure, Kohlenoxyd, Ammoniak und Sarkosin und durch Einwirkung von Methyljodid in alkoholischer Kalilauge entsteht Coffeïn. Methylirung.

Nachweis: Die Xanthinprobe (§ 125) fällt negativ, die Weidel'sche Probe (§ 125) dagegen positiv aus. Das Verhalten gegen Natronlauge ist auch zum mikroskopischen Nachweis kleinster Mengen reiner Base geeignet. Nachweis.

133. **Paraxanthin (1. 7-Dimethylxanthin)** $C_7H_8N_4O_2$. Dieser mit Theobromin und Theophyllin isomere Körper ist von Thudichum[1]), ausserdem von Salomon[2]) aus menschlichem Harn gewonnen und besonders von Salomon näher untersucht worden. Die im Harn vorkommenden Mengen sind äusserst gering. Eingegebenes Coffeïn[3]) erscheint im Harn von Kaninchen und Hunden z. Th. als Paraxanthin. Vorkommen.

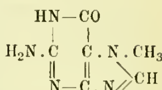


Synthetisch wurde es von E. Fischer[4]) dargestellt. Ueber die Isolirung aus Harn siehe § 136.

Dasselbe wurde in farblosen, glänzenden, wasserfreien Krystallen, meist sechsseitigen Tafeln, die in Büscheln und Rosetten angeordnet sind, erhalten; zuweilen krystallisirt es auch mit Wasser. Es schmilzt bei 295—296° und giebt bei stärkerem Erhitzen weisse Dämpfe mit Isonitrilgeruch. Es ist in kaltem Wasser viel leichter als Xanthin und seine übrigen Homologen löslich, noch leichter löslich in heissem Wasser (in ungefähr 24 Th.) mit neutraler Reaction, unlöslich in Alkohol und Aether, dagegen löslich in Ammoniak, Salzsäure und Salpetersäure. In concentrirter Lösung fällt Natronlauge Paraxanthinnatrium in langen glänzenden, theils isolirten, theils in Büscheln gruppirten Tafeln; werden dieselben in Wasser gelöst und diese Lösung neutralisirt, so scheidet sich Paraxanthin krystallinisch aus. Ebenso kommt es zu einer krystallinischen Ausscheidung von Paraxanthin, wenn man die Krystalle von Paraxanthinnatrium in Lösungen von sauren Salzen oder Ammoniaksalzen einträgt. In ammoniakalischer Lösung wird Paraxanthin durch salpetersaures Silber flockig oder gelatinös gefällt und diese Niederschläge, in heisser Salpetersäure gelöst, scheiden sich beim Erkalten in Krystallbüscheln ab. Pikrinsäure giebt in salzsauren Lösungen krystallinischen Niederschlag, Platinchlorid giebt orangefarbiges Doppelsalz*). Kupferacetat, Phosphorwolframsäure, basisches Bleiacetat und Ammoniak sowie Quecksilberchlorid im Ueberschuss geben Niederschläge, salpetersaures Quecksilber nicht. Durch Erwärmen mit Jodmethyl in alkoholischer Lösung geht es in Coffeïn über (E. Fischer). Eigenschaften. Methylirung.

Nachweis: Die Xanthinprobe (§ 125) fällt negativ, die Weidel'sche Probe (§ 125) positiv aus; ausserdem ist das Verhalten gegen Natronlauge characteristisch. Nachweis.

134. **Epiguanin (7-Methylguanin)** $C_6H_7N_5O$ wurde von Krüger und Wulff[5]) im menschlichen Harn entdeckt.



E. Fischer[6]) stellte es synthetisch dar. Ueber die Darstellung aus Harn siehe § 136.

Es krystallisirt aus Wasser in feinen Nadeln, aus ammoniakhaltigem Wasser in Eigenschaften.

---

*) Ueber die Krystallformen siehe Krüger u. Salomon, Zeitschr. f. physiol. Chem. **24**. 376. (1898.)

[1]) Annals of Chemical Med. London 1879. **1**. 160.

[2]) Salomon, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. **16**. 195. (1883.) u. **18**. 3406. (1885.) Zeitschr. f. klin. Med. Supplbd. **7**. 63. Zeitschr. f. physiol. Chem. **11**. 410. (1887.) u. **15**. 319. (1891.) Arch. f. pathol. Anat. **125**. 554. (1891.)
Kossel, Zeitschr. f. physiol. Chem. **13**. 302. (1889.)

[3]) Krüger, Ber. d. d. chem. Ges. **32**. 2818 u. 3336. (1899.)

[4]) Ebendas. **30**. 2400 (1897.) u. **31**. 2622. (1898.)

[5]) Arch. f. Anat. u. Physiol. physiol. Abtheil. 1894. S. 553.
Krüger u. Salomon, Zeitschr. f. physiol. Chem. **24**. 387. (1898.) u. **26**. 389. (1898—1899.)

[6]) Ber. d. d. chem. Ges. **30**. 2411. (1897.)

glänzenden, prismatischen Krystallen; lufttrocken stellt es eine verfilzte Masse von mattem Seidenglanz dar. In kaltem Wasser fast unlöslich, in heissem schwer löslich, desgleichen in Ammoniak, leicht löslich in verdünnter Natronlauge, Salzsäure und Schwefelsäure, schwer in verdünnter Salpetersäure. Aus der Lösung in heisser, starker Natronlauge krystallisirt die Natriumverbindung in breiten, glänzenden Nadeln. Das Pikrat (zur Identificirung geeignet) krystallisirt in Blättchen oder zu Büscheln vereinigten Nadeln, löst sich in ungefähr 2700 Th. Wasser von 18°, beginnt bei etwa 253° zu sintern und zersetzt sich bei 257° unter Gasentwicklung. Chloroplatinat sechsseitige, orangerothe Prismen. Wässerige Lösungen werden durch Ammoniak und Silbernitrat gelatinös, durch Kupfersulfat und Natriumbisulfit schon in der Kälte, durch Kupfersulfat und Natriumthiosulfat erst in der Wärme gefällt, durch Bleiacetat, basisches Bleiacetat, Bleiacetat und Ammoniak nicht gefällt. Durch salpetrige Säure wird es in Heteroxanthin verwandelt.

Nachweis. Nachweis: Die Xanthinprobe (§ 125) fällt positiv aus, aber sehr viel weniger intensiv, als beim Xanthin, die Weidel'sche Probe (§ 125) ebenfalls positiv. Ausserdem sind die Natriumverbindung und das Pikrat charakteristisch.

135. **Episarkin.** Unter diesem Namen beschreibt Balke[1]) einen von ihm aus menschlichem Harn isolirten Körper, der in kaltem Wasser fast unlöslich, in heissem Wasser schwer löslich ist und in glasglänzenden Nadeln krystallisirt. In Salzsäure ist es leicht löslich; mit Silbernitrat giebt es einen in Salpetersäure unlöslichen, in Ammoniak ziemlich leicht löslichen Niederschlag, durch ammoniakalischen Bleiessig wird es gefällt, durch Pikrinsäure nicht gefällt. Der Körper ist vielleicht identisch mit Epiguanin, vergl. darüber Krüger und Salomon[2]).

Nachweis. Nachweis: Die Xanthinprobe (§ 125) fällt negativ, die Weidel'sche Probe (§ 125) positiv aus.

Darstellung von Purinbasen (Alloxurbasen) aus Harn nach Krüger und Salomon[3]).

136. Der Harn*) wird siedend heiss mit Natriumbisulfit und Kupfersulfat ausgefällt, der Niederschlag abfiltrirt, mit heissem Wasser gewaschen und mit Wasser erwärmt. Man macht mit Ammoniak schwach alkalisch, dann mit Salzsäure stark sauer, leitet Schwefelwasserstoff ein und filtrirt heiss. Die Hauptmenge der Harnsäure bleibt auf dem Filter. Das salzsaure Filtrat wird durch möglichst wenig Thierkohle entfärbt und auf dem Wasserbade möglichst weit eingedampft, zum Schluss bei niederer Temperatur und unter häufigen Umschwenken der Schale oder besser während Darüberleitens eines kräftigen Luftstromes. Die im syrupösen Rückstande noch reichlich vorhandene Salzsäure wird durch zweimaliges Eindampfen mit Wasser und schliesslich durch Eindampfen mit 96 proc. Alkohol der Hauptmenge nach entfernt, bis die Masse grobpulverig geworden ist. Die-

*) Da der Gehalt des Harns an Purinbasen ein sehr geringer ist, verwendet man mindestens 300 Liter. Dieselben werden zunächst in einzelnen Portionen ausgefällt. Dann findet eine Vereinigung und gemeinsame Weiterverarbeitung statt.

1) Journ. f. prakt. Chem. N. F. **47**. 563. (1893.)
Salomon, Zeitschr. f. physiol. Chem. **18**. 207. (1894.)

2) Zeitschr. f. physiol. Chem. **26**. 394. (1898—1899.)

3) Zeitschr. f. physiol. Chem. **26**. 373. (1898—1899) u. persönliche Mittheilung von Herrn M. Krüger.

selbe wird mit Wasser bei 40° digerirt, nach mehrstündigem Stehen abfiltrirt, mit Wasser salzsäurefrei, dann mit Alkohol und Aether gewaschen. Das Filtrat kann noch einmal eingedampft und in derselben Weise behandelt werden; jedoch bleibt beim Digeriren mit Wasser nur ein geringer Rückstand, der mit dem ersten vereinigt wird.

Der ungelöste Theil (Xanthinfraction) besteht aus Xanthin, Heteroxanthin und 1-Methylxanthin, in die wässerige Lösung (Hypoxanthinfraction) gehen über: Epiguanin, Adenin, Hypoxanthin und Paraxanthin, sowie eine geringe Menge von Heteroxanthin und 1-Methylxanthin.

a) **Xanthinfraction:** Trennung von Heteroxanthin, Xanthin und 1-Methylxanthin. Das Gemenge dieser Basen wird in der fünfzehnfachen Menge 3,3 proc. salzsäurefreier Natronlauge heiss gelöst. Innerhalb 24 Stunden scheidet sich das Natriumsalz des Heteroxanthins in reinem Zustande und fast vollständig aus. Je 60 ccm des auf 60° erwärmten Filtrates werden in ein (vorher aufgekochtes) kaltes Gemisch aus 20 ccm concentrirter Salpetersäure und 20 ccm Wasser langsam und unter Umrühren eingetragen. Hierbei wird der Rest der Harnsäure, welcher mit den Alloxurbasen in Lösung gegangen war (vergl. oben), zerstört und innerhalb mehrerer Stunden scheidet sich beim Stehen in der Kälte salpetersaures Xanthin aus. Erweist sich dasselbe unter dem Mikroskope noch nicht als rein, so neutralisirt man je 3 g des lufttrocknen Rohproductes unter wenig Wasser mit Natronlauge, erwärmt, löst das freie Xanthin durch mehr Lauge, verdünnt auf 60 ccm und behandelt die auf 60° erwärmte Lösung wie oben. Reines, salpetersaures Xanthin setzt sich als schweres Krystallpulver in aus Blättchen bestehenden Drusen ab. Zur Darstellung des freien Xanthins wird die ammoniakalische Lösung des Nitrates eingedampft, wobei sich die Base in amorphen Krusten abscheidet. Das 1-Methylxanthin wird aus dem salpetersauren Filtrate vom Xanthinnitrat durch Uebersättigen mit Ammoniak und Eindampfen als atlasglänzende Masse, aus mikroskopischen Blättchen bestehend, erhalten. Der Rest kann durch ammoniakalische Silberlösung oder als Kupferoxydulverbindung gefällt werden.

b) **Hypoxanthinfraction:** Trennung von Epiguanin, Adenin, Hypoxanthin und Paraxanthin. Die salzsaure, vom Xanthin und seinen Homologen abfiltrirte Lösung scheidet auf Zusatz von Ammoniak in geringem Ueberschuss sofort das Epiguanin in kleinen, glänzenden Prismen aus. Das Filtrat wird durch Erhitzen vom Ammoniak befreit und die nicht zu concentrirte Lösung in der Kälte vorsichtig mit 1,1 proc. Pikrinsäurelösung in geringem Ueberschuss versetzt und das Adeninpikrat sofort mit einer Saugvorrichtung abfiltrirt. Nachdem das mit Schwefelsäure versetzte Filtrat durch Ausschütteln mit Benzol oder Toluol von überschüssiger Pikrinsäure befreit ist, wird die Gesammtmenge der noch vorhandenen Basen durch ammoniakalische Silberlösung oder durch Kupfersulfat und Bisulfit gefällt, der Niederschlag durch Schwefelwasserstoffgas zersetzt und die wässerige

Lösung der Basen eingedampft. Je 3 g des trocknen Rückstandes werden in 100 ccm heisser verdünnter Salpetersäure (90 ccm Wasser + 10 ccm conc. Salpetersäure) gelöst. Beim Erkalten scheidet sich Hypoxanthinnitrat in reinem Zustande aus.

Aus dem Filtrat vom salpetersauren Hypoxanthin werden die Basen durch das Kupfer- oder Silberreagens ausgefällt und aus den Niederschlägen wieder in der üblichen Weise isolirt. Der Rückstand der (säurefreien) Basenlösung wird in der fünfzehnfachen Menge 10 proc. Natronlauge gelöst. Beim Erkalten, am Besten im Eisschrank, scheidet sich das Paraxanthinnatrium aus, aus welchem das freie Paraxanthin am Besten durch Neutralisation der Lösung mit Essigsäure gewonnen werden kann.

Schwefelcyansäure CNSH.

Vorkommen. CN | SH

137. Schwefelcyansäure, auch Rhodanwasserstoff genannt, ist seit langer Zeit als Bestandtheil des Parotiden- und Submaxillarsecrets sehr vieler, aber nicht aller Menschen und einiger Thiere (fehlt beim Hund[1]) und Pferd) bekannt, und in neuerer Zeit auch im normalen Harne von Menschen und Thieren[2]), in der Kuhmilch[3]), im Magensaft von Hunden und Katzen (Nencki[4]) und im Nasen- und Conjunctivalsecret[5]) gefunden worden. Der Gehalt dieser Flüssigkeiten an Schwefelcyanverbindung ist stets gering.

Darstellung. Künstlich stellt man die Alkaliverbindung dar durch Schmelzen von Cyankalium mit Schwefel oder durch Einwirkung von Schwefelammonium auf Blausäure oder durch Verdampfen von Schwefelkohlenstoff, Alkohol und concentrirter Ammoniakflüssigkeit.

Eine Isolirung aus den thierischen Flüssigkeiten ist schon der kleinen Menge wegen unmöglich. Ueber die quantitative Bestimmung, welche auf der Ausfällung mit Silbernitrat aus salpetersaurer Lösung und Bestimmung des Schwefels im ausgewaschenen Niederschlag oder auch auf einem kolorimetrischen Verfahren beruht, siehe „Speichel".

Eigenschaften. Die Verbindungen der Schwefelcyansäure mit Kalium, Natrium, Ammonium krystallisiren und sind in Wasser oder Alkohol leicht löslich, farblos, leicht zerfliesslich. Ihre Lösungen geben mit salpetersaurem Silber einen weissen, käsigen Niederschlag, der in verdünnter Salpetersäure unlöslich, in Ammoniak schwer löslich ist. Mit Eisenchlorid geben sie intensiv blutrothe Färbung der Flüssigkeit, die durch starke Salzsäure nicht verändert wird, mit Kupfersulfat smaragdgrüne Färbung (Colasanti[6]), mit

---

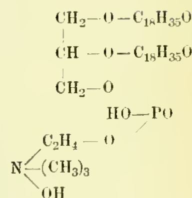
[1]) J. Munk, Arch. f. d. ges. Phys. **61**. 620. (1895.)
[2]) Derselbe, Arch. f. path. Anat. **69**. 354. (1877.)
Gscheidlen, Arch. f. d. ges. Physiol. **14**. 401. (1877.)
[3]) Musso, Maly's Jahresbericht f. Thierchem. 1877. S. 168.
[4]) Ber. d. d. chem. Ges. **28**. 1318. (1895.)
[5]) Muck, Münch. klin. Wochenschr. 1900. S. 1168 u. Keller ebendas. S. 1597.
[6]) Moleschott, Unters. zur Naturlehre. Bd. 14. 2. Heft.

Jodsäure und Stärkekleister blaue Jodstärke (Solera[1]). Eine Mischung von Eisenvitriol und Kupfervitriol fällt aus saurer oder neutraler Lösung die Schwefelcyansäure in Verbindung mit Kupferoxydul als feines weisses Pulver. Mit Zink und Salzsäure zersetzt sie sich unter Entwickelung von Schwefelwasserstoff.

Der Nachweis der Schwefelcyanverbindungen geschieht am Besten durch ihr Verhalten gegen Eisenchlorid. Nachweis.

Lecithine.

138. Lecithine[2]) haben sich in allen darauf untersuchten thierischen und pflanzlichen Zellen und Geweben gefunden, besonders reichlich sind sie in der Nervensubstanz, im Eidotter, im Sperma vorhanden. Aus Blut, Milch, Galle, Transsudaten sind sie gleichfalls gewonnen. Es sind Esterverbindungen des Glycerins mit 2 Mol. höherer Fettsäuren (Stearin-, Palmitin- oder Oelsäure) und 1 Mol. Phosphorsäure, die ihrerseits esterartig mit 1 Mol. Cholin verbunden ist[3]). Man unterscheidet also Distearyl-, Dipalmityl- und Dioleyllecithin. Das Distearyllecithin hat die Zusammensetzung $C_{44}H_{90}NPO_9$. Im Eidotter und ebenso in verschiedenen Organen von Menschen, Thieren und Pflanzen finden sich mehrere Lecithine nebeneinander. Die Lecithine kommen vielfach in mehr oder weniger lockerer Verbindung mit anderen Stoffen (Eiweissstoffen, Kohlehydraten, Cerebrosiden u. a.) vor, deren Lösungsverhältnisse dadurch wesentlich verändert werden. Vorkommen.



Für die Darstellung der Lecithine aus Eigelb sind verschiedene Verfahren angegeben. Darstellung aus Eigelb.

1. Die von Eiweiss getrennten Dotter werden so oft mit neuen Portionen Aether geschüttelt, als der Aether noch deutlich gelbe Farbe annimmt. Man kann Lecithin sowohl aus dem Rückstand nach a oder aus der ätherischen Lösung nach b oder c gewinnen.

a) Der Rückstand wird mit absolutem Alkohol zusammengerührt, eine halbe Stunde auf 50—60° erwärmt, abfiltrirt, das Filtrat bei dieser Temperatur auf dem Wasserbad zum dicken Syrup verdunstet und mehrmals mit Aether extrahirt. Beim Verdunsten der Aetherauszüge bleibt Lecithin zurück. Dasselbe kann zur Reinigung nach Altmann in Chloroform gelöst und aus genügend conc. Lösung durch Aceton gefällt werden (Hoppe-Seyler und Diakonow).

---

[1]) Maly's Jahresber. f. Thierchem. 1877. S. 256.

[2]) Hoppe-Seyler, Med. chem. Untersuchungen. Berlin. Heft 2. S. 215. 1867.

[3]) Diakonow, Ebendas. Heft 2. S. 221. 1867, und Heft 3. S. 405. 1868.
Centralbl. f. d. med. Wiss. 1868. S. 2, 97 u. 434.
Strecker, Ann. Chem. Pharm. **148**. 77. (1868).
Hundeshagen, Journ. f. pract. Chem. N. F. **28**. 219. (1883.)
Gilson, Zeitschr. f. physiol. Chem. **12**. 585. (1888.)

b) Der ätherische Auszug wird durch Destillation völlig vom Aether befreit, in Petroläther gelöst und filtrirt. Das Filtrat wird in einem Scheidetrichter mit 75proc. Alkohol geschüttelt, nach völliger Trennung der Flüssigkeiten der alkoholische Theil abgelassen und die petrolätherische Lösung mehrmals in derselben Weise mit 75proc. Alkohol behandelt. Die vereinigten alkoholischen Auszüge werden zur Klärung einige Zeit stehen gelassen, von sich etwa noch abscheidendem Petroläther abgetrennt, filtrirt und vom Rest des Aethers durch Destillation befreit. Bei mehrtägigem Stehen an einem kühlen Ort scheidet sich ein Niederschlag aus. Die alkoholische Lösung wird von diesem abfiltrirt, durch Kochen mit Thierkohle entfärbt und möglichst schnell bei 50—60° eingedampft. Den syrupartigen Rückstand nimmt man mit Aether auf, decantirt, filtrirt und dampft wieder ein. Um das so erhaltene Lecithin noch von Spuren Cholesterin zu befreien, löst man es in möglichst wenig absolutem Alkohol und lässt es bei —5 bis —15° sich ausscheiden (Gilson).

c) Der ätherische Auszug wird verdunstet, der Rückstand durch Filtration bei Körpertemperatur vom Oel befreit, in wenig Aether gelöst und die Lösung mit Aceton gefällt. Den Niederschlag wäscht man mit Aceton aus, löst ihn in möglichst wenig Aether und fügt die mehrfache Menge absoluten Alkohols hinzu. Nach mehreren Stunden wird filtrirt und aus dem Filtrat das Lecithin durch Aceton ausgefällt (Zuelzer[1]).

2. Die durch sechsstündiges Erwärmen von Eigelb mit 96proc. Alkohol auf dem Wasserbad am Rückflusskühler erhaltene Lösung wird nach dem Abkühlen auf 0° mit alkoholischer Cadmiumchloridlösung gefällt, der Niederschlag nach einigen Stunden abgesaugt und mit 96proc. Alkohol gewaschen. Man extrahirt die lufttrocken gewordene Masse mit Aether, kocht sie mit der achtfachen Menge 80proc. Alkohols am Rückflusskühler und trägt nun eine entsprechende Menge Ammoniumcarbonat in conc. Lösung langsam ein, bis die Reaction deutlich alkalisch und eine Probe des Filtrats cadmiumfrei ist. Man filtrirt heiss, kühlt langsam auf —10° ab, decantirt den entstandenen Niederschlag mit kaltem Alkohol, löst ihn in wenig Chloroform, fällt mit Aceton, saugt den entstandenen Niederschlag sofort ab und trocknet im Vacuum über Schwefelsäure. Ausbeute circa 3 pCt. Aus dem alkoholischen Filtrat lassen sich noch weitere Mengen gewinnen (Bergell[2]).

Die so erhaltenen Präparate sind Gemische mehrerer Lecithine. Nach Diakonow scheidet sich aus einer conc. alkoholischen Lösung bei starkem Abkühlen hauptsächlich Distearyllecithin ab, während Dioleyllecithin zum grössten Theil in Lösung bleibt. Der beim Behandeln der Chlorcadmium-

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **27**. 265. (1899.)

[2]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **33**. 2584. (1900.)

verbindung mit Aether in Lösung gehende Theil enthält ein Lecithin, welches bei der Spaltung fast nur Oelsäure liefert (Bergell, Ulpiani[1]).

Die Isolirung der Lecithine aus Geweben und Flüssigkeiten, in denen es sich in nur geringer Menge findet, ist ausserordentlich schwierig, oft unausführbar. In den meisten Fällen empfiehlt sich das Verfahren, welches weiter unten für den Nachweis und die quantitative Bestimmung angegeben ist.

Eigenschaften. Die Lecithine krystallisiren aus concentrirter alkoholischer Lösung beim längern Stehen unter 0°, aber nur sehr schwierig. Für gewöhnlich bilden sie eine knetbare, wachsartige Masse, die im Vacuum getrocknet pulverisirbar wird (Bergell). Sie sind löslich in Alkohol, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Benzol, fetten Oelen; weniger leicht, doch immer noch reichlich, in Aether. In Wasser quellen sie zu kleisterartiger Masse auf, unter dem Mikroskop schleimig-ölige Fäden (Myelinreaction). Beim Erwärmen über 70° bräunen sie sich, langsam auch bei längerem Stehen der feuchten Masse an der Luft; hierbei tritt saure Reaction ein. Ein ganz trocknes Präparat zersetzt sich erst über 100°. Die zuerst von Strecker, dann auch von Bergell und Ulpiani dargestellte Chlorcadmiumverbindung enthält auf 3 Mol. Lecithin 4 Mol. Chlorcadmium. Sie löst sich in einem Gemisch von Schwefelkohlenstoff und Alkohol bezw. Aether. Beim Anstellen der Myelinreaction treten charakteristische Rosettenformen auf. Platinchloridverbindung weisser, flockiger Niederschlag, leicht löslich in Aether, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, aus diesen Lösungen durch Alkohol fällbar. Diese aus Eidotterauszügen dargestellte Verbindung enthielt nur wenig Stearyllecithin, dagegen Palmityl- und Oleyllecithin (Strecker).

Optische Eigenschaften. Die ohne Anwendung von Wärme isolirten Lecithine drehen rechts, ebenfalls die Chlorcadmiumverbindungen, für welche in 1—2 proc. Lösungen $[\alpha]_D = + 11{,}41^\circ$ gefunden wurde (Ulpiani).

Zersetzungen. Durch Einwirkung verdünnter Säuren, auch Schwefelsäure, werden die Lecithine nur sehr langsam zersetzt; selbst 10 proc. Schwefelsäure zerlegt sie nur allmählich unter Bildung von Glycerinphosphorsäure, Phosphorsäure, Fettsäuren und Cholin. Alkalien verseifen Lecithine in der Wärme schnell auch noch bei ziemlich starker Verdünnung, Natriumalkoholat schon in der Kälte. Auch beim Kochen mit starker Aetzbarytlösung werden sie schnell vollkommen zersetzt, dabei fallen die Fettsäuren als Barytsalze aus, während Cholin und glycerinphosphorsaurer Baryt in Lösung bleiben. Bei der Fäulniss entstehen aus den Lecithinen dieselben Spaltungsproducte, das Cholin zersetzt sich allmählich weiter.

Nachweis und quantitative Bestimmung. 139. Zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung in Organen und Flüssigkeiten eignet sich wohl am Besten das folgende Verfahren: Die fein zerkleinerten Organe extrahirt man mit Alkohol und fil-

[1]) Gaz. chim. ital. **31**. II. 47, ref. Chem. Centralbl. 1901. II. S. 30 u. 193.

trirt die alkoholischen Auszüge ab; Flüssigkeiten fällt man mit Alkohol und filtrirt von den Niederschlägen ab. Die auf den Filtern zurückbleibenden Massen werden mehrmals mit Alkohol bei 50—60° ausgezogen, die abfiltrirten Lösungen mit den ersten Filtraten vereinigt und bei mässiger Wärme verdunstet; dabei ist auf möglichst neutrale Reaction zu achten, nöthigenfalls durch Essigsäure oder Soda während des Eindampfens zu neutralisiren. Der Rückstand wird mit einer Mischung von Alkohol und Aether extrahirt, das Filtrat durch Abdestilliren vom Aether befreit und die alkoholische Lösung verdunstet. Den zurückbleibenden Syrup zieht man mehrmals mit Aether aus, vereinigt die filtrirten Auszüge und destillirt den Aether ab. Der Rückstand enthält neben Lecithin wohl stets Cholesterin, gewöhnlich auch Fette, seltener andere Stoffe, aber keine Phosphate. Findet man bei der Veraschung mit Soda und Salpeter (§ 56) Phosphorsäure, so ist damit die Anwesenheit von Lecithin (oder lecithinhaltiger Atomcomplexe) nachgewiesen. Mit Hülfe einer quantitativen Phosphorbestimmung lässt sich auch die Menge des Lecithins ermitteln. Distearyllecithin enthält 3,84 pCt. P., Dipalmityllecithin 4,12 pCt. P., Dioleyllecithin 3,86 pCt. P. Zum weiteren Nachweis des Lecithins zersetzt man den Rückstand und sucht die charakteristischen Zersetzungsproducte zu isoliren. Zu dem Zweck zertheilt man die Masse in gesättigtem Barytwasser, kocht in einem Kolben eine Stunde unter häufigem Schütteln, fällt durch Kohlensäure den überschüssigen Baryt aus und filtrirt heiss. Dem Filterrückstand werden nach Zufügen von Salzsäure durch Schütteln mit Aether Fettsäuren und Cholesterin entzogen und die abgegossenen Aetherlösungen geben beim Schütteln mit mässig verdünnter Natronlauge an diese die Fettsäuren ab, während das Cholesterin im Aether verbleibt. Das wässerige Filtrat dampft man auf dem Wasserbad ein und behandelt den Rückstand mit absolutem Alkohol, welcher Cholin löst und glycerinphosphorsauren Baryt ungelöst lässt. Aus der alkoholischen Lösung fällt man das Cholin mit alkoholischer Platinchloridlösung.

Vorkommen. 140. **Jecorin** ist von Drechsel[1]) eine Substanz genannt worden, welche er zuerst aus Pferdeleber, später auch aus Delphinleber darstellte. Baldi[2]) erhielt es aus Kaninchen- und Hundeleber, Rindermilz, Pferdeblut, Muskelfleisch, Rohcerebrin aus Menschengehirn. Auch im Hunde- und Kaninchenblut ist es vorhanden (Henriques[3]). Nach Henriques stellt Jecorin den bei Weitem grössten Theil der reducirenden Substanz des Blutes dar.

Darstellung. Drechsel gewann Jecorin durch wiederholte Extraction der Organe mit kaltem Alkohol. Der beim Verdunsten des Alkohols bei 40—45° zurückbleibende, halbflüssige, Rückstand wurde mit absolutem Alkohol mehrmals ausgeschüttelt. Hierbei blieb das Jecorin ungelöst, wurde dann in wasserhaltigem Aether aufgenommen und aus dieser Lösung durch Alkohol gefällt. Die Lösung in wasserhaltigem Aether und Fällung mit Alkohol wurde zur Rei-

---

1) Journ. f. prakt. Ch. N. F. **33**. 425. (1886.) Zeitschr. f. Biol. **33**. 85. (1896.)
2) Arch. f. Anat. u. Physiol., physiol. Abthlg. 1887. Supplbd. S. 100.
3) Zeitschr. f. physiol. Chem. **23**. 244. (1897.)

nigung noch mehrmals wiederholt. Das dann im Vacuum getrocknete Jecorin hat die Zusammensetzung C51,4, H8,2, N2,86, S 1,4 P3,5, Na2,72 pCt. Nach Bing[1]) löst sich der in der ätherischen Lösung auf Zusatz von Alkohol entstehende Niederschlag im Ueberschuss ganz oder theilweise wieder. Die von Baldi mit geringer Modification des Drechsel-schen Verfahrens dargestellten Jecorinpräparate zeigten die gleichen Eigenschaften, aber (nach Analyse des Präparates aus Hundeleber) andere Zusammensetzung: C46,89, H7,99 —8,09, N4,36—4,88, S2,14—2,70, P2,29—2,75, Na5,72 pCt.

Das im Vacuum getrocknete Jecorin bildet eine poröse, erdige, feste Masse, hygroskopisch, beim Reiben stark elektrisch werdend. Es ist in wasserhaltigem Aether löslich. In Wasser löst es sich nach vorheriger schleimiger Quellung auf, trübt sich beim Stehen und wird beim Schütteln wieder klar. Auf Zusatz von Natronlauge wird die wässerige Lösung sofort völlig klar. Das beim Verdunsten der wässerigen Lösung über Schwefelsäure hinterbleibende Jecorin ist nun auch in wasserhaltigem Aether unlöslich. Als Zeichen der Reinheit der Präparate hebt Baldi hervor, dass die wässerige Lösung durch Salzsäure nicht getrübt werden dürfe. Durch concentrirte Salzlösungen, durch Kupferacetat und Silbernitrat wird es gefällt. Der Silberniederschlag ist in überschüssiger Jecorinlösung löslich zu opalescirender Flüssigkeit, die mit Ammoniak versetzt und erhitzt portweinroth wird. Fehling'sche Lösung wird beim Erwärmen reducirt. Mit Hefe tritt Gährung ein. Das Reductionsvermögen nimmt dabei ab, ohne ganz zu verschwinden (Jacobsen[2]). Mit starker Natronlauge gekocht, giebt es beim Erkalten Seifenleim und auf Zusatz von Säure Schwefelwasserstoff. Beim Kochen mit Alkalilauge oder Salzsäure oder Salpetersäure bildet sich Stearinsäure, beim Kochen mit Barytwasser entstehen die Zersetzungsproducte des Lecithins (Cholin, Glycerinphosphorsäure, Fettsäuren), beim Kochen mit verdünnten Säuren ein Zucker, wahrscheinlich Glykose (Manasse[3]), Jacobsen). Eigenschaften.

Das Jecorin ist ein durchaus ungenügend charakterisirter Körper. Vielleicht stellt er im Wesentlichen eine Verbindung von Lecithin und Zucker dar.

Ammoniumbasen und Monamine.

141. **Cholin (Trimethyloxaethylammoniumhydroxyd) $C_5H_{15}NO_2$.** Das Cholin ist zuerst von Strecker[4]) aus Galle (Schweine-, Rindergalle) nach Behandlung mit Baryt (als Zersetzungsproduct des Lecithins) erhalten, dann von Liebreich[5]) als Spaltungsproduct des Protagons und von Diakonow[6]) als Spaltungsproduct des Lecithins erkannt worden. Präformirt findet es sich in verhältnissmässig kleiner Menge im Gehirn[7]), ferner in frischen menschlichen Leichen und in der Häringslake, überall aus dem Lecithin stammend. Im Pflanzenreich ist es auch häufig nachgewiesen worden. Vorkommen.

$N \begin{cases} CH_2-CH_2(OH) \\ -(CH_3)_3 \\ OH \end{cases}$

[1]) Skand. Arch. f. Phys. **9**. 336. (1896.) [2]) Ebendas. **6**. 262. (1895.)
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **20**. 478. (1895.)
[4]) Ann. Chem. Pharm. **123**. 353. (1862) u. **148**. 77. (1868.)
[5]) Ebendas. **134**. 29. (1865.)
Gulewitsch, Zeitschr. f. physiol. Chem. **27**. 50. (1899.)
[6]) Medic. chem. Untersuch., herausgeg. von Hoppe-Seyler, H. 2, S. 221. (1867.) Centralbl. f. d. med. Wiss. 1868. S. 2.
[7]) Gulewitsch a. a. O.

Darstellung. Wurtz[1]) erhielt es synthetisch aus Trimethylamin und Glycolchlorhydrin. Zu seiner Darstellung dienen am Besten Eidotter. Man extrahirt sie wiederholt mit Aether, darauf mit heissem Alkohol, befreit die abgegossenen Auszüge durch Destillation von Aether bezw. Alkohol, vereinigt die Rückstände und kocht sie eine Stunde mit gesättigtem Barytwasser. Jetzt wird in die mit Wasser verdünnte, heisse Lösung Kohlensäure eingeleitet, filtrirt, das Filtrat bei mässiger Wärme verdunstet, der Syrup mit absolutem Alkohol extrahirt und das Filtrat mit alkoholischer Platinchloridlösung versetzt, so lange Niederschlag entsteht. Den hellgelben Niederschlag, Cholinplatinchlorid, wäscht man mit Alkohol, krystallisirt ihn mehrmals aus wenig Wasser um und zerlegt ihn dann durch Einleiten von Schwefelwasserstoff in seine heisse wässerige Lösung. Die vom Schwefelplatin abfiltrirte Flüssigkeit wird zur Entfernung des Schwefelwasserstoffs etwas eingeengt, zur Entfernung der Salzsäure mit frisch gefälltem Silberoxyd geschüttelt, wieder filtrirt und abgedampft. Es bleibt Cholin zurück.

Eigenschaften. Cholin stellt einen stark alkalisch reagirenden Syrup dar, welcher in Wasser und Alkohol leicht löslich, in Aether unlöslich ist. Das salzsaure Salz $C_5H_{14}NOCl$, in Wasser und Alkohol leicht löslich, in Aether unlöslich krystallisirt beim Stehen seiner eingedampften, wässerigen Lösung über Schwefelsäure oder beim Ueberschichten seiner concentrirten alkoholischen Lösung mit Aether. Die alkoholische Lösung des salzsauren Cholins giebt mit Goldchlorid das in kleinen, gelben Nadeln sich ausscheidende, in kaltem Wasser schwer, in kaltem Alkohol und in Aether unlösliche, in heissem Wasser und heissem Alkohol lösliche Golddoppelsalz $C_5H_{14}NOCl \cdot AuCl_3$, mit Sublimat langsame Abscheidung von $C_5H_{14}NOCl \cdot 6HgCl_2$, in kaltem Wasser schwer lösliche[2]) (1,5 : 100 bei 19,5°) Krystalle, mit Platinchlorid hellgelben Niederschlag von Cholinplatinchlorid $2C_5H_{14}NOCl \cdot PtCl_4$. Das Platindoppelsalz ist in Alkohol und in Aether unlöslich, löslich in Wasser und zwar lösen sich in 100 Th. bei 21° 17,2 Th. Es ist polymorph[3]); beim Abdampfen der Lösung scheidet es sich zuerst oft als sechsseitige Blättchen oder lange, flache Nadeln aus; die gereinigten Krystalle sind orangerothe, oft grosse und dicke, monokline Tafeln oder Prismen. Aus warmer 15 pCt. Alkohol enthaltender Lösung krystallisirt es in regulären Octaëdern. In neutralen Lösungen von salzsaurem Cholin entstehen Niederschläge mit Phosphormolybdänsäure, Phosphorwolframsäure, Kaliumwismuthjodid, Kaliumquecksilberjodid, Jodjodkalium, Quecksilberchlorid (gesättigte wässerige Lösung), Gerbsäure. Näheres über diese Niederschläge siehe bei Gulewitsch[3]).

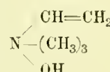
---

1) Ann. Chem. Pharm. Supplb. 6. S. 116 u. 197. (1868.)
2) Mörner, Zeitschr. f. physiol. Chem. **22**. 520. (1896—1897.)
3) Hundeshagen, Journ. f. pract. Chem. N. F. **28**. 246. (1883.)
Gulewitsch, Zeitschr. f. physiol. Chem. **24**. 513. (1898), hier eingehende Beschreibung der Cholinverbindungen und Litteraturangaben.

Die freie Base zerfällt beim Erhitzen in Trimethylamin, Aethylenoxyd und Wasser. Verdünnte Lösungen zersetzen sich nicht beim Kochen mit Barytwasser und nicht bei der Einwirkung von Natriumalkoholat, concentrirte geben beim Kochen mit Barytwasser oder mit Kalilauge bei gewöhnlicher Temperatur Trimethylamin. Bei der Fäulniss unter Luftabschluss entstehen als Endproducte Kohlensäure, Sumpfgas, Ammoniak und Methylamin (Hasebroek[1]). Zersetzungen.

Der Nachweis des Cholins beruht auf Darstellung und Untersuchung des Platindoppelsalzes. Starkes Concentriren der die freie Basis enthaltenden Lösung ist zu vermeiden, soweit es geht. Die Flüssigkeiten, welche zur Untersuchung auf sie verwendet werden sollen, sind angesäuert abzudampfen, der Rückstand ist mit absolutem Alkohol zu extrahiren und die alkoholische Lösung mit alkoholischem Platinchlorid zu fällen. Die Leichtlöslichkeit der Platinchloridverbindung in Wasser gestattet gute Trennung von Kalium-, Ammonium- und Neurinplatinchlorid, die Unlöslichkeit derselben in Aether die Trennung von Lecithinplatinchlorid. Das gereinigte Cholinplatinchlorid giebt beim Glühen 31,63 pCt. Pt. Trennung und Nachweis.

142. **Neurin (Trimethylvinylammoniumhydroxyd)** $C_5H_{13}NO$. Das Vorkommen von Neurin im Körper ist zweifelhaft, es findet sich entgegen früheren Angaben nicht unter den Spaltungsproducten des Gehirns (Gulewitsch[2]). Brieger[3]) erhielt es neben Neuridin bei 5—8 tägiger Fäulniss von Fleisch. Synthetisch wurde es von Hofmann[4]) und von Baeyer[5]) dargestellt. Verdünnte wässerige Lösungen von Cholin gehen bei längerem Stehen zum Theil in Neurin über. Vorkommen.



Die in Wasser sehr leicht lösliche Base reagirt stark alkalisch. $C_5H_{12}NCl$ zerfliesssiche, in Wasser und absolutem Alkohol leicht lösliche Nadeln. $2C_5H_{12}NCl \cdot PtCl_4$ kryltallisirt in einer Combination von Oktaëdern und Würfeln, ist in Wasser viel schwerer löslich, als das entsprechende Cholinsalz (2,66 Th. lösen sich in 100 Th. bei 20,5°) und geht entgegen früherer Angabe beim Umkrystallisiren nicht in das Cholinsalz über. $C_5H_{12}NCl \cdot AuCl_3$ goldgelbe, nadelförmige Krystalle, in kaltem Wasser sehr schwer, in heissem Wasser und in Alkohol ziemlich leicht löslich. Näheres über diese und andere Salze bei Gulewitsch[6]). Lösungen von Neurinchlorid verhalten sich gegen Phosphormolybdaensäure, Phosphorwolframsäure, Kaliumwismuthjodid, Kaliumquecksilberjodid, Sublimat und Gerbsäure wie Cholinchlorid, nur dass die Niederschläge in noch viel verdünnteren Lösungen entstehen (Gulewitsch). Eigenschaften.

Verdünnte wässerige Neurinlösungen werden weder durch Sieden, noch beim Kochen mit concentrirtem Barytwasser, noch beim Erwärmen nach dem Ansäuern mit Salzsäure auf dem Wasserbad zersetzt, ebensowenig alkoholische Lösungen bei der Einwirkung von Natriumalkoholat. Aus concentrirten Lösungen entweicht beim Kochen Trimethylamin (Gulewitsch). Zersetzungen.

Zur Trennung von Cholin und Neurin eignen sich besonders die Platinsalze, welche Trennung und Nachweis.

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **12**. 148. (1888.)
2) Ebendas. **27**. 50. (1899.)
3) Ber. d. d. chem. Ges. **16**. 1190. (1883), **17**. 515 u. 1137. (1884.)
4) Jahrb. d. Chem. 1858. S. 339.
5) Ann. Chem. Pharm. **140**. 311. (1866.)
6) Zeitschr. f. physiol. Chem. **26**. 175. (1898—1899.)

eine fractionirte Krystallisation und eine mechanische Auslese gestatten. Bei langsamer Verdunstung scheidet sich Cholinplatinchlorid in wenigen grossen, Neurinplatinchlorid dagegen in zahlreichen kleinen Krystallen ab.

Vorkommen. $N \diagup CH_2-COOH$, $-(CH_3)_3$, $\diagdown OH$

143. **Betaïn (Oxyneurin)** $C_5H_{13}NO_3$ wurde von Liebreich[1]) in sehr geringer Menge im Harn und von Brieger[2]) in der Miessmuschel nachgewiesen. Scheibler[3]) stellte es aus Rübenmelasse und unreifen Rüben, E. Schulze[4]) aus Baumwollen- und Wickensamen, aus Malz- und Weizenkeimlingen dar; auch aus anderen Pflanzen ist es gewonnen worden.

Darstellung. $N \diagup CH_2-CO$, $-(CH_3)_3$, $\diagdown O$ (Ring)

Es entsteht bei der Oxydation von Cholin, sowie synthetisch durch Einwirkung von Monochloressigsäure auf Trimethylamin (Liebreich). Man erhält es am Reichlichsten u. z. in wasserfreier Form $C_5H_{11}NO_2$ durch achtstündiges Erhitzen von Dimethylaminoessigsäuremethylester im Einschlussrohr auf 200° (Willstätter[5]).

Eigenschaften. Es ist in Wasser und Alkohol löslich und krystallisirt aus Alkohol in grossen, wasserhellen, an der Luft zerfliesslichen Krystallen. $C_5H_{11}NO_2.HCl$, in Wasser leicht lösliche, in absolutem Alkohol unlösliche Tafeln. $C_5H_{11}NO_2.HCl.AuCl_3$, in kaltem Wasser schwer lösliche Nadeln oder Blättchen. $2(C_5H_{11}NO.HCl).HgCl_2$, in Wasser lösliche Täfelchen. Das Pikrat krystallisirt in gelben Nadeln. Mit Phosphormolybdaensäure geben Betaïnlösungen gelben Niederschlag. Beim Erhitzen mit Alkalien entweicht Trimethylamin.

144. **Muscarin** $C_5H_{15}NO_3$ wurde zuerst aus Fliegenpilz von Schmiedeberg und Koppe[6]) erhalten. Brieger[7]) erhielt aus (5 Tage bei Sommertemperatur) gefaultem Dorsch eine Base als Platindoppelsalz von Zusammensetzung und Eigenschaften des Muscarins.

Es entsteht bei der Einwirkung von Salpetersäure auf Cholin oder Cholinplatinchlorid (Schmiedeberg und Harnack[8]).

Zerfliessliche, alkalisch reagirende Krystalle, in Alkohol löslich, durch Kaliumquecksilberjodid oder Kaliumwismuthjodid aus ihren Lösungen fällbar. Das Platindoppelsalz krystallisirt in Octaëdern und ist in Wasser schwer löslich, auch das Golddoppelsalz löst sich schwer.

$N(CH_3)_3$ 145. **Trimethylamin** C_3H_9N wurde in der Häringslake, in faulendem Gehirn, in gefaulten Eiern und andern lecithinreichen Substanzen nachgewiesen; auch aus faulem Harn ist es gewonnen worden. Wohl stets entstammt es dem Lecithin bezw. dem Cholin, Neurin oder Betaïn, welche alle bei der Fäulniss und auch bei der Zersetzung durch Alkalien diese Base liefern. Auch das Auftreten von Trimethylamin in den Destillationsproducten des Harns, des Blutes, des Leberthrans, besonders nach Zusatz von Kalkmilch, welches Dessaignes, Hofmann, Winckler beobachtet haben, kann sehr wohl aus der Zersetzung des Lecithins oder der genannten Ammoniumbasen erklärt werden.

Eigenthümlich (nach Häringslake) riechende, in Wasser, Alkohol und Aether leicht lösliche Flüssigkeit von stark alkalischer Reaction, welche bei 3,2 bis 3,8° siedet. $2(C_3H_9N.HCl).PtCl_4$ reguläre, orangefarbige Krystalle, von denen sich 0,0293 g in 180 ccm kochendem absolutem Alkohol lösen.

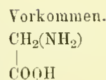
---

1) Ber. d. d. chem. Ges. **2.** 12 u. 167 (1869) und **3.** 161 (1870).
2) Ptomaïne. Heft 3. S. 77.
3) Ber. d. d. chem. Ges. **2.** 292 (1869) und **3.** 155 (1870).
4) Zeitschr. f. physiol. Chem. **15.** 140 (1891) und **17.** 204 (1893.) E. Schulze und Frankfurt, Ber. d. d. chem. Ges. **26.** 2151. (1893.)
5) Ebendas. **35.** 596. (1902.)
6) Vierteljahrsschr. f. Pharm. **19.** 276. (1870.) Das Muscarin. Leipzig 1869.
7) Ptomaïne. Heft 1. S. 48.
8) Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **4.** 168 (1875) und **6.** 101. (1877.)

Von anderen alkylirten Aminen ist Dimethylamin ebenfalls häufig nachgewiesen, Methylamin, Diaethylamin[1]), Triaethylamin[2]), Butylamin[3]), Propylamin[4]) und Isoamylamin[3]) sind seltener als Fäulnissproducte aufgefunden worden.

Monaminosäuren.

146. **Glykocoll (Aminoessigsäure) $C_2H_5NO_2$.** Glykocoll (Leimzucker, Glycin) bildet sich bei der Zersetzung von Hippursäure, Glykocholsäure, Harnsäure, Xanthin, Guanin, Adenin, ferner bei der Spaltung von Leim und den meisten Albuminoïden, sowie von einigen Eiweissstoffen mit Säuren und Alkalien. Es findet sich in den Muskeln von Pecten irradians[5]). Vorkommen.



Glykocoll wird synthetisch durch Einwirkung von Ammoniak auf Monochloressigsäure, durch Einwirkung von concentrirtem Jodwasserstoff auf Cyan in der Hitze und durch manche andere Reaction erhalten. Darstellung.

Am Zweckmässigsten stellt man es aus Hippursäure in folgender Weise dar: 1 Th. Hippursäure wird mit 4 Th. verdünnter Schwefelsäure (1 Th. conc. Säure auf 6 Th. Wasser) 10 bis 12 Stunden am Rückflusskühler gekocht, die Masse vorsichtig in eine Schale ausgegossen, nach 24 Stunden filtrirt und mit kaltem Wasser gewaschen. Das Filtrat wird eingedampft, durch Ausschütteln mit Aether von Benzoësäure befreit, mit Wasser verdünnt und durch Kochen mit Bariumcarbonat neutralisirt. Aus dem eingedampften Filtrat scheidet sich Glykocoll ab. Ueber die Isolirung des Glykocolls aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteïnkörper siehe § 156.

Es bildet farblose, oft grosse, harte, monokline Krystalle von rhomboëdrischer Form oder vierseitige Prismen, welche süss schmecken, bei 228° sich bräunen und bei 232—236° unter Gasentwicklung schmelzen und sich zersetzen. Sie lösen sich in 4,3 Th. kaltem Wasser, schwer in heissem Alkohol, sind unlöslich in kaltem Alkohol oder Aether. Die wässerigen Lösungen reagiren sauer und färben sich mit Eisenchlorid roth. Sie werden durch salpetersaures Quecksilberoxyd oder Quecksilberchlorid nicht gefällt, ebenso nicht durch Phosphorwolframsäure, auch nicht aus 5 proc. Lösungen. Aus Flüssigkeiten, die gleichzeitig neutrale Alkalisalze enthalten, krystallisirt Glykocoll leicht mit diesen zusammen, z. B. $C_2H_5NO_2 . KCl$. Es verbindet sich mit Metalloxyden und Säuren. Siedende Lösung von Glykocoll löst Kupferoxydhydrat mit blauer Farbe und scheidet nach dem Concentriren beim Erkalten dunkelblaue Nadeln von Glykocollkupfer $(C_2H_4NO_2)_2Cu + H_2O$ ab, löslich in 173,8 Th. Wasser bei 15°, unlöslich in Alkohol. Ebenso Eigenschaften.

---

1) Bocklisch, Ber. d. d. chem. Ges. **18**. 86 u. 1922. (1885.)
2) Ehrenberg, Zeitschr. f. physiol. Chem. **11**. 253. (1887).
3) Gautier et Mourgues, Compt. rend. **107**. 110 u. 254. (1888.)
4) Brieger, Deutsche med. Wochenschr. 1887. S. 469.
5) Chittenden, Ann. Chem. Pharm. **178**. 266. (1875).

löst sich in einer heissen Glykocolllösung Silberoxyd unter Bildung des Silbersalzes. Beim Abdampfen einer wässrigen Glykocolllösung mit überschüssiger Salzsäure scheidet sich das salzsaure Salz $C_2H_5NO_2 . HCl$ krystallinisch aus. Es ist in Wasser sehr leicht, in Alkohol wenig löslich. Mit concentrirter Salzsäure und Natriumnitrit liefert es Monochloressigsäure (Jochem[1]).

Benzoylester. Aethylester. Mit Benzoylchlorid und Natronlauge geschüttelt, geht es in Hippursäure über (Baum[2]). Bei der Einwirkung von Salzsäuregas auf Glykocoll in absolutem Alkohol entsteht der in Wasser und Alkohol sehr leicht lösliche, schön krystallisirende salzsaure Glykocollaethylester, der bei 144° schmilzt und durch Kochen mit überschüssigem Alkali in Alkohol und Glykocoll gespalten wird (Curtius[3]). Um aus ihm die freie Base zu erhalten, übergiesst man nach E. Fischer[4]) das Hydrochlorat (50 g) mit Wasser (25 ccm), überschichtet mit Aether (100 ccm), fügt unter gleichzeitiger starker Abkühlung 33proc. Natronlauge (40 ccm) hinzu und dann so viel trockenes gekörntes Kaliumcarbonat, dass die wässerige Schicht in einen dicken Brei verwandelt wird. Nach kräftigem Umschütteln wird die ätherische Lösung abgegossen, der Rückstand noch zwei- bis dreimal mit wenig Aether durchgeschüttelt und die vereinigte ätherische Lösung nach dem Filtriren zuerst etwa 10 Minuten mit trockenem Kaliumcarbonat und dann mit etwas Calcium- oder Bariumoxyd mehrere Stunden geschüttelt. Nach dem Abdampfen des Aethers hinterbleibt ein Rückstand, der bei 11 mm Druck bei 43—44° destillirt, Glykocollaethylester, ein stark basisches, flüchtiges, sehr unbeständiges Oel, das beim längeren Stehen eine feste weisse Masse abscheidet, welche die Biuretreaction giebt (Unterschied von Alaninester und den höheren Homologen). Das Pikrat des Esters scheidet sich aus warmem Wasser in quadratischen Prismen ab und schmilzt bei 154° ohne Zersetzung. Durch mehrstündiges Kochen mit Wasser am Rückflusskühler wird der Ester gespalten. Die Phenylisocyanatverbindung (§ 156, 4) des Glykocolls schmilzt bei 195° (Paal[5]).

Phenylisocyanatverbindung.

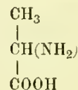
Zersetzungen. Gegen Kochen mit verdünnten Säuren und Alkalien ist es widerstandsfähig. Beim Erhitzen mit Phosphorsäure auf 150° bleibt es unverändert, beim Erhitzen mit einer alkalischen Chlorbariumlösung auf 150° entstehen nur Spuren von Kohlensäure (Schöndorff). In der Hitze, besonders beim Erhitzen mit Aetzbaryt, zerfällt Glykocoll in Methylamin und Kohlensäure. Durch salpetrige Säure wird es in Glykolsäure, Stickstoff und Wasser zerlegt.

Nachweis. Dem Nachweis muss die Isolirung vorangehen. Für diese benutzt

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **31**. 119. (1900—1901.)
[2]) Ebendas. **9**. 465. (1885.)
[3]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **16**. 753. (1883.)
[4]) Ebendas. **34**. 433. (1901.) [5]) Ebendas. **27**. 974. (1894.)

man die Löslichkeit in Wasser, Unlöslichkeit in Alkohol und Aether, die Kupferverbindung, vor Allem aber die Destillation des Aethylesters und die Krystallisation des salzsauren Aethylesters. In dieser Weise lässt sich das Glykocoll am Besten von den andern Aminosäuren trennen (§ 156). Auch die Umwandlung in die leicht abzuscheidende und gut charakterisirte Hippursäure ist in manchen Fällen mit Erfolg für die Isolirung benutzt worden[1]). Man schüttelt mit Benzoylchlorid und Natronlauge, säuert an, schüttelt mit Essigaether aus und nimmt den Essigaetherrückstand mit 5 pCt. Benzol enthaltendem Chloroform auf. Aus dieser Lösung fällt die Hippursäure aus. Zum Nachweis sehr geringer Mengen empfiehlt Spiro[2]) den Essigaetherrückstand mit Hülfe der Lactimidprobe auf Hippursäure zu prüfen. Zur Identificirung des isolirten Glykocolls dienen die oben aufgeführten Eigenschaften, der süsse Geschmack u. s. w., besonders auch das Verhalten des Aethylesters, des salzsauren und pikrinsauren Aethylesters sowie der Phenylisocyanatverbindung.

147. **Alanin** (*α*-**Aminopropionsäure**) $C_3H_7NO_2$. Von den drei Modificationen, dem d-, l- und i-Alanin, ist das d-Alanin unter den durch Kochen mit Säure entstandenen Zersetzungsproducten der Seide (Weyl[3]) und des Leims (E. Fischer[4]) aufgefunden worden. Von Weyl wurde es zuerst isolirt, von E. Fischer und Skita[5]) als d-Alanin erkannt. Vorkommen.



Synthetisch gewinnt man i-Alanin aus Aldehydammoniak, Blausäure und Salzsäure (Strecker[6]). Seine Benzoylverbindung, die man durch Schütteln der wässerigen Lösung mit Benzoylchlorid und Natriumbicarbonat erhält, lässt sich mit Hülfe von Brucin und Strychnin in l- und d-Benzoylalanin zerlegen, aus denen durch Kochen mit Salzsäure l- und d-Alanin gewonnen werden können (E. Fischer[7]). Ueber die Isolirung aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteïnkörper siehe § 156. Darstellung.

Die Alanine schmecken süss, lösen sich sehr leicht in heissem Wasser und krystallisiren bei genügender Concentration in der Kälte. i-Alanin löst sich in 4,6 Th. Wasser bei 17° und ist in Alkohol schwer löslich. Im Capillarrohr rasch erhitzt, zersetzt es sich bei 293°, d- und l-Alanin zersetzen sich bei 297°. Sie lösen Kupferoxydhydrat beim Kochen mit blauer Farbe und beim Erkalten krystallisirt das Alaninkupfer $(C_3H_6NO_2)_2Cu + H_2O$ in tiefblauen Nadeln oder rhombischen Prismen, die in Wasser ziemlich leicht löslich, in Alkohol fast unlöslich sind. Eigenschaften.

Der i-Alaninaethylester, der in derselben Weise wie der Leucinester Aethylester.

---

1) Ch. Fischer, Zeitschr. für physiol. Chem. **19**. 164. (1894.) Gonnermann, Arch. f. d. ges. Physiol. **59**. 42. (1895.)
2) Zeitschr. f. physiol. Chem. **28**. 174. (1899.)
3) Ber. d. d. chem. Ges. **21**. 1529. (1888.)
4) Zeitschr. f. physiol. Chem. **35**. 70. (1902.) 5) Ebendas. **33**. 177. (1901.)
6) Ann. Chem. Pharm. **75**. 29. (1850.)
7) Ber. d. d. chem. Ges. **32**. 2451. (1899.)

(siehe § 151) dargestellt wird, ist eine alkalisch reagirende Flüssigkeit, die unter 11 mm Druck bei 48° siedet und ein bei 168° schmelzendes Pikrat (feine gelbe, in warmem Wasser ziemlich leicht lösliche Nadeln) bildet. Der Ester wird beim mehrstündigen Kochen mit der zehnfachen Menge Wasser am Rückflusskühler quantitativ gespalten. Die Ester der activen Alanine haben jedenfalls den gleichen Siedepunkt (E. Fischer[1]).

Phenylisocyanatverbindung. Die Phenylisocynatverbindung (§ 156, 4) des i-Alanins schmilzt bei 168° (Paal[2]).

Optische Eigenschaften. Das Drehungsvermögen ist gering. Für das salzsaure Salz des l-Alanins (9—10proc. Lösung) fand E. Fischer $[\alpha]_D = -9{,}68°$. Das salzsaure Salz des d-Alanins dreht gleich stark nach rechts.

Zersetzungen. Beim Erhitzen mit Phosphorsäure und mit alkalischer Chlorbariumlösung verhält sich Alanin wie Glykocoll (§ 146). Salpetrige Säure wandelt d-Alanin in d-Milchsäure um (E. Fischer und Skita).

Nachweis. Für den Nachweis gilt im Allgemeinen das beim Glykocoll (§ 146) Gesagte.

Vorkommen. 148. **Serin (α-Amino-β-Oxypropionsäure) $C_3H_7NO_3$** entsteht bei der Säurespaltung von Seidenleim (Cramer[3]).

$CH_2(OH)$ | $CH(NH_2)$ | $COOH$

Synthetisch wurde es von E. Fischer und Leuchs[4]) durch Einwirkung von Ammoniak und Blausäure auf Glykolaldehyd dargestellt.

Eigenschaften. Es krystallisirt aus Wasser in sehr dünnen, unregelmässig gestalteten Blättchen, die sich beim raschen Erhitzen im Capillarrohr gegen 225° bräunen und unter Gasentwicklung gegen 240° schmelzen. Es löst sich in Wasser von 20° im Verhältniss von 1 : 23,13, leichter in heissem Wasser, nicht in Alkohol oder Aether und schmeckt süss. Es verbindet sich leicht mit Kupferoxyd oder Silberoxyd und giebt mit Säuren schwierig krystallisirende, sauer reagirende Salze. Die Phenylisocyanatverbindung löst sich leicht in Alkohol, auch erheblich in Wasser und schmilzt bei 165—166°. Serin ist in wässeriger und salzsaurer Lösung inactiv[5]). Es wird durch salpetrige Säure in Glycerinsäure $C_3H_6O_4$ und durch Reduction mit Jodwasserstoff in Alanin umgewandelt.

149. **Jodgorgosäure $C_4H_8NJO_2$** hat die Zusammensetzung einer Aminojodbuttersäure und wurde aus dem Gorgonin, der Substanz des hornigen Achsenskeletts von Gorgonia Cavolinii, durch Kochen mit Barytwasser von Drechsel[6]) erhalten. Sie scheidet sich aus heissem Wasser, in dem sie schwer löslich ist, in Tafel- und Wetzsteinformen ab; in Kalilauge löst sie sich leicht und fällt auf Zusatz von Säuren wieder krystallinisch aus; nur in Salzsäure ist sie leicht löslich, beim Verdunsten scheidet sich das salzsaure Salz in Nadeln ab; dasselbe wird schon durch Wasser zersetzt.

---

[1]) Ber. d. d. chem. Ges. **34**. 433. (1901.) [2]) Ebendas. **27**. 974. (1894.)
[3]) Journ. f. pract. Chem. **96**. 76. (1865.)
[4]) Sitz.-Ber. d. Acad. d. Wissensch. zu Berlin. 1902. VI.
[5]) Baumann, Ber. d. d. chem. Ges. **15**. 1735. (1882.)
[6]) Zeitschr. f. Biol. **33**. 85. (1896.)

150. **Aminovaleriansäure** $C_5H_{11}NO_2$. Eine Aminovaleriansäure wurde zuerst von Gorup-Besanez aus Pancreas, von Lilienfeld[1]) aus Leukocyten der Thymus gewonnen, dann unter den Barytspaltungsproducten des Eiweiss[2]) und den Säurespaltungsproducten des Elastins[3]), Reticulins[4]), Caseïns[5]) und einiger Protamine[6]) nachgewiesen. E. und H. Salkowski[7]) erhielten eine Aminovaleriansäure aus gefaultem Eiweiss und Leim und E. Schulze[8]) isolirte sie aus verschiedenen Keimlingen. Während die von E. und H. Salkowski gewonnene mit der δ-Amino-n-valeriansäure (siehe unten) identisch ist[9]), weiss man über die Structur der andern nichts Bestimmtes. E. Fischer[5]) fand für die von ihm aus Caseïn erhaltene vielleicht noch nicht ganz reine Säure (5.59 pCt. in 20 proc. Salzsäure gelöst) $[\alpha]_D^{20°} = + 27{,}95°$ und den Sm.-P. unter starker Gasentwicklung bei 285—286°, sie liess sich durch 24stündiges Kochen mit Baryt bei 175° in die inactive Form umwandeln. Die Phenylisocyanatverbindung (§ 156, 4) dieser inactiven Säure krystallisirt in glänzenden Blättchen und deren Anhydrid in Nadeln von Sm.-P. 117° (corr.).

Vorkommen.

Phenylisocyanatverbindung.

Ueber die Isolirung aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteïnkörper siehe § 156.

δ-Amino-n-valeriansäure, synthetisch erhalten durch Oxydation von Benzoylpiperidin mit Kaliumpermanganat und Zersetzung des so entstandenen Benzoylderivates mit Salzsäure[10]), krystallisirt in perlmutterglänzenden Blättchen, die in Wasser löslich, in absolutem Alkohol fast unlöslich sind und bei 157—158° schmelzen. Sie verhält sich indifferent gegen Kupferoxyd, Kupferacetat und ammoniakalische Silberlösung. Das Golddoppelsalz $C_5H_{11}NO_2 . HCl . AuCl_3 + H_2O$ krystallisirt in orangefarbigen, monoklinen Krystallen, die bei 86—87° schmelzen.

$CH_2(NH_2)$
|
CH_2
|
CH_2
|
CH_2
|
COOH

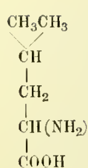
Genauere Angaben über andere synthetisch dargestellte Aminovaleriansäuren finden sich bei Slimmer[11]).

151. **Leucin (α-Aminoisobutylessigsäure)** $C_6H_{13}NO_2$. Leucin existirt in der l-, d- und i-Modification. Es entsteht regelmässig bei der tryptischen Verdauung der Eiweissstoffe sowie bei lange fortgesetzter peptischer, ebenso bei

Vorkommen.

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **18**. 476. (1894.)
2) Schützenberger, Ann. Chim. Phys. (5.) **16**. 283. (1879.)
3) Horbaczewski, Monatsh. f. Chem. **6**. 639. (1885.)
4) Siegfried, Habilitationsschr., Leipzig 1892.
5) E. Fischer, Zeitschr. f. physiol. Chem. **33**. 151. (1901.)
6) Kossel, Zeitschr. f. physiol. Chem. **26**. 588. (1898—1899.)
7) Ber. d. d. chem. Ges. **16**. 1191. (1883) u. **31**. 776. (1898.)
8) E. Schulze und Barbieri, Journ. f. pract. Chem. N. F. **27**. 337. (1883.) E. Schulze, Zeitschr. f. physiol. Chem. **24**. 49. (1898.)
9) Vergl. auch Gabriel u. Aschan, Ber. d. d. chem. Ges. **24**. 1364. (1891.) H. Salkowski, Ebendas. **31**. 776. (1898.)
10) Schotten, Ebendas. **17**. 2544. (1884.)
11) Ebendas. **35**. 400. (1902.)



der Autolyse von Leber, Muskeln und Lunge. Es bildet sich ferner beim Erhitzen von Eiweissstoffen und Albuminoïden mit Alkalien, Barythydrat, Mineralsäuren (am besten Salzsäure), sowie bei der bacteriellen Zersetzung dieser Stoffe, daher sein Vorkommen im Schmutz auf der Haut (gefaulte Epidermis), in der Schafwolle. Es findet sich in kleiner Menge in vielen Organen (in der Leber besonders nach Phosphorvergiftung), oft im Eiter, in Atherombägen, in Ichthyosisschuppen, im Harn nur in bestimmten Fällen von Lebererweichung, dann aber sehr reichlich; auch aus dem Harn eines Erysipelkranken[1]) wurde es einmal isolirt. Bei Insecten, Spinnen und Krebsen ist sein Vorkommen festgestellt, auch in Pflanzen ist es gefunden, z. B. in der Hefe, in vielen Keimpflanzen (E. Schulze[2]). Das natürlich vorkommende und das durch Spaltung der Proteïnkörper erhaltene ist meist l-Leucin. Wird die Spaltung durch Barytwasser (mehrtägiges Erhitzen bei 150—160°) vorgenommen, so entsteht i-Leucin[3]) und unter denselben Bedingungen lässt sich l-Leucin racemisiren[4]). Aus zersetztem Käse wurde einmal i-Leucin erhalten[5]).

Darstellung. Das synthetisch dargestellte Leucin ist stets die inactive Modification. Am besten gewinnt man es aus Isovaleraldehyd, Ammoniak und Blausäure[6]). Durch Einwirkung von Penicillium glaucum entsteht aus dem inactiven d-Leucin (E. Schulze[4]) [5]). Aus dem durch Benzoylirung des i-Leucins erhaltenen i-Benzoylleucin lässt sich mit Hülfe des Cinchonin- und Chinidinsalzes d- und l-Benzoylleucin gewinnen, welche durch hydrolytische Spaltung d- und l-Leucin liefern, allerdings in nicht reinem Zustande, da ihnen kleine Mengen der durch theilweise Racemisirung entstandenen inactiven Modification beigemengt sind (E. Fischer[6]). Ueber die Darstellung von l-Leucin aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteïnkörper siehe § 155 und § 156.

Eigenschaften. Die reinen Leucine bilden glänzende, weisse, ausserordentlich dünne und leichte Krystallblättchen, die sich mit Wasser nur sehr langsam benetzen. Vorsichtig erhitzt, sublimiren sie grösstentheils unzersetzt in weissen, wolligen Flocken unter Bildung eines eigenthümlichen Geruches (Amylamin); im geschlossenen Capillarrohr rasch erhitzt, schmelzen sie unter Zersetzung und Gasentwicklung bei 293—295° (corr.) (E. Fischer). l- und d-Leucin lösen sich bei Zimmertemperatur in 40—46 Th. Wasser[5]), leichter in heissem, sehr schwer in kaltem, etwas leichter in siedendem Alkohol. Das i-Leucin löst sich schwerer in Wasser, in ungefähr 106 Th. bei Zimmertemperatur.

---

1) Kirkbride, Centralbl. f. innere Medic. 18. 1057. (1897.)
2) Zeitschr. f. physiol. Chemie. 24. 49. (1898.)
3) E. Schulze und Likiernik, Ebendas. 9. 63. (1885.)
4) E. Schulze und Bosshard, Ebendas. 10. 134. (1886.)
5) E. Schulze und Likiernik, Ebendas. 17. 513. (1893.)
6) Hüfner, Journ. f. prakt. Ch. N. F. 1. 6. (1870.) Ueber die beste Methode der Darstellung siehe Schulze und Likiernik a. a. O. und E. Fischer, Ber. d. d. chem. Ges. 33. 2370. (1900.)

So lange das Leucin unrein ist, ist es sehr viel löslicher in Wasser und besonders auch in Alkohol und krystallisirt in runden Kugeln und Knollen, die ziemlich schwach lichtbrechend sind und sich dadurch von den sonst ähnlichen, aber dunkel und scharf contourirten Abscheidungen harnsaurer Salze unterscheiden. Diese Kugeln und Knollen erscheinen entweder ganz hyalin oder radial gestreift, oder auch aus deutlich radial gruppirten, sehr dünnen Blättchen zusammengesetzt. In Alkalien, auch in Ammoniak, ebenso in verdünnten Säuren lösen sich die Leucine leicht auf, in conc. Schwefelsäure oder Salzsäure lösen sie sich ohne Zersetzung. Durch Phosphorwolframsäure werden sie auch aus 5proc. Lösungen nicht gefällt. Gegen Säuren, Basen und Salze verhalten sie sich dem Glykocoll völlig analog. Beim Kochen mit Kupferoxydhydrat oder Kupferacetat bildet sich in Wasser sehr schwer lösliches Leucinkupfer, das in blassblauen Schüppchen (rhombische Tafeln) krystallisirt und lufttrocken die Zusammensetzung $(C_6H_{12}NO_2)_2Cu$ hat (Hofmeister[1]).

Beim Schütteln mit Benzoylchlorid und Natriumbicarbonat entsteht Benzoylleucin (E. Fischer). Dasselbe scheidet sich aus heisser wässeriger Lösung als bald krystallinisch werdendes Oel ab, ist in Alkohol und Aether löslich, in Ligroïn auch in der Wärme sehr schwer löslich. i-Benzoylleucin schmilzt bei 135—139°, l-Benzoylleucin bei 104—106°. Benzoylester.

Der Leucinäthylester wird nach E. Fischer[2]) hergestellt, indem man mit Alkohol übergossenes Leucin durch Einleiten gasförmiger Salzsäure in Lösung bringt, 15 Minuten auf dem Wasserbad erwärmt, bei einer Temperatur unter 35° und unter stark vermindertem Druck eindampft, den zurückbleibenden Syrup in möglichst wenig Wasser löst und nun mit Aether und starker Natronlauge weiter behandelt, wie beim Glykocoll (§ 146) beschrieben. Er stellt eine alkalische Flüssigkeit von eigenthümlichem Geruche dar, die unter 12 mm Druck bei 83,5°, unter 18 mm bei 88° und unter 761 mm bei 196° siedet (i-Leucinester, ebenso wie l-Leucinester), in 23 Th. Wasser von Zimmertemperatur löslich ist (i-Leucinester) und durch concentrirtes Alkali oder Salze wieder abgeschieden wird; in verdünnten Mineralsäuren ist er sehr leicht löslich, mit Alkohol, Aether, Benzol mischt er sich in jedem Verhältniss. Das Pikrat des i-Leucinesters bildet gelbe, oft garbenförmig gruppirte, in heissem Wasser schwer lösliche Nadeln vom Sm.-P. 134°, das Pikrat des l-Leucinesters wirr durch einander gewachsene Nädelchen vom Sm.-P. 128°. Der l-Leucinester dreht rechts $[\alpha]_D^{20^\circ} = + 13,1^\circ$. Das Hydrochlorat wurde zuerst von Röhmann[3]) dargestellt. Es ist leicht löslich in Wasser und deshalb weniger charakteristisch. Der Aethylester, aus dem durch mehrstündiges Kochen mit der 20fachen Menge Wasser am Rückflusskühler bis Aethylester.

---

[1]) Ann. Chem. Pharm. **189**. 6. (1877.)

[2]) Ber. d. d. chem. Ges. **34**. 433. (1901.)

[3]) Ebendas. **30**. 1980. (1897.)

zur klaren Lösung und zum Verschwinden der alkalischen Reaction das Leucin quantitativ wiedergewonnen werden kann, eignet sich ausgezeichnet zur Reinigung des Leucins. Die Phenylisocyanatverbindung (§ 156, 4) des i-Leucins schmilzt bei 165° (corr.), ihr Anhydrid bei 125° (corr.) (E. Fischer[1]).

Phenylisocyanatverbindung.

Optische Eigenschaften.

Das l-Leucin ist in wässeriger Lösung schwach linksdrehend (Lewkowitsch[2]), in saurer und alkalischer rechtsdrehend (Mauthner[3]) und zwar beträgt für 4 bis 5proc. Lösungen in 20proc. Salzsäure $[\alpha]_D = +17,5^0$ bis $17,8^0$ (E. Schulze und Likiernik a. a. O.). E. Fischer[4]) fand für ein über den Aethylester gereinigtes Präparat unter denselben Verhältnissen $[\alpha]_D = +17,86^0$. In alkalischer Lösung ist die Drehung weniger stark. Für das d-Leucin fanden E. Schulze und Bosshard[5]) in salzsaurer Lösung $[\alpha]_D = -17,5^0$.

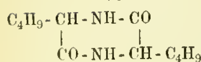
Zersetzungen.

Beim Erhitzen mit Phosphorsäure und mit alkalischer Chlorbariumlösung verhält es sich wie Glykocoll (§ 146). Durch salpetrige Säure wird Leucin in α-Oxyisobutylessigsäure, Wasser und Stickstoff zerlegt[6]), durch bacterielle Zersetzung, ebenso durch Schmelzen mit Aetzkali entsteht Valeriansäure.

Nachweis.

Dem Nachweis muss die Isolirung vorangehen. Für diese benutzt man die Löslichkeitsverhältnisse, die Kupferverbindung, vor Allem aber die Ueberführung in den Aethylester und Destillation desselben. In dieser Form geschieht die Trennung der Leucins von anderen Aminosäuren (§ 156). Zur Identificirung dienen die oben erwähnten Eigenschaften, besonders das wollige Sublimat und der Geruch beim Erhitzen, und die beschriebenen Verbindungen. Unter ihnen sind das Pikrat des Aethylesters und die Phenylisocyanatverbindung, sowie deren Anhydrid besonders hervorzuheben. Es ist zweckmässig, das Leucin vor Ueberführung in die Phenylisocyanatverbindung durch Erhitzen mit Barytwasser zu racemisiren.

Vorkommen.



152. **Leucinimid** $C_{12}H_{22}N_2O_2$ wurde zuerst von Bopp[7]) aus faulenden Albuminstoffen, dann von Ritthausen[8]) bei der Spaltung von Eiweissstoffen mit Schwefelsäure, von R. Cohn[9]) bei der Spaltung von Caseïn mit Salzsäure in geringer Menge erhalten und von Cohn genauer untersucht. Salaskin[10]) fand es unter den peptischen und tryptischen Verdauungsproducten des Hämoglobins.

---

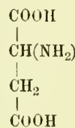
[1]) Ber. d. d. chem. Ges. **33**. 2381. (1900.) Zeitschr. f. physiol. Chem. **33**. 187. (1901.)
[2]) Ber. d. d. chem. Ges. **17**. 1439. (1884.)
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **7**. 223. (1882—1883.)
[4]) Ber. d. d. chem. Ges. **34**. 433. (1901.)
[5]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **10**. 134. (1886.)
[6]) Schulze und Likiernik a. a. O. Gmelin, Ebendas. **18**. 21. (1894.)
[7]) Ann. Chem. Pharm. **49**. 16. (1844.)
[8]) Die Eiweisskörper der Getreidearten u. s. w. Bonn 1872.
[9]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **22**. 166. (1896—1897.) u. **29**. 283. (1900.)
[10]) Ebendas. **32**. 592. (1901.)

Es ist in Wasser sehr schwer, in kochendem Alkohol ziemlich leicht löslich, wenig in Aether, viel leichter in Essigäther und krystallisirt in centimeterlangen, fächerförmig gruppirten Nadeln. Es sublimirt ausserordentlich leicht, das ganze Lumen des Glases anfüllend, reagirt neutral, löst sich in kalter und warmer conc. Schwefelsäure unzersetzt und fällt beim Verdünnen mit Wasser unverändert wieder aus. Der Schmelzpunkt des durch Salzsäurespaltung und des durch Trypsinverdauung gewonnenen Leucinimids liegt bei 295°, das bei der peptischen Verdauung gewonnene zeigte einen niedrigeren, aber keinen constanten Schmelzpunkt, auch eine grössere Löslichkeit. Eigenschaften.

Das synthetische, nach E. Fischer[1]) am besten durch 24 stündiges Erhitzen des Leucinesters (siehe § 151) im geschlossenen Rohr auf 180 bis 190° dargestellte Leucinimid (3. 6-Diisobutyl-2. 5-Diacipiperazin) schmilzt bei 271°. Nach Cohn zeigt das synthetische Leucinimid auch eine leichtere Löslichkeit in Alkohol und Aether.

Tyroleucin, Leuceïne. Diese von Schützenberger[2]) aus den Producten der Zersetzung von Eiweiss durch Aetzbaryt isolirten Körper sind Gemenge. Vergl. darüber E. Schulze[3]) und E. Fischer[4]).

153. **Asparaginsäure (Aminobernsteinsäure)** $C_4H_7NO_4$. Asparaginsäure existirt in der l-, d- und i-Modification. Sie entsteht bei der tryptischen Verdauung der Eiweissstoffe, bei der durch Kochen mit Salz- oder Schwefelsäure bewirkten Spaltung von Eiweissstoffen, Leim und Hornsubstanzen. Sie findet sich im Secret der Drüse von Tritonium nodosum[5]) und in der Melasse. Die natürlich vorkommende und die durch Kochen von Proteïnstoffen mit Säuren erhaltene ist l-Asparaginsäure. Vorkommen.



Die synthetisch durch Erhitzen von Fumarsäure mit alkoholischem Ammoniak gebildete ist die inactive Form. Die Darstellung geschieht am besten durch Kochen von Asparagin mit Salzsäure (Schiff[6]) und zwar entsteht auf diese Weise aus l-Asparagin die l-Säure und aus d-Asparagin die d-Säure. Salzsaure l-Asparaginsäure wird durch Erhitzen ihrer wässerigen Lösung auf 170—180° in die inactive übergeführt (Michael und Wing[7]). Die i-Benzoylasparaginsäure lässt sich durch Brucin in l- und d-Benzoylasparaginsäure trennen, aus denen durch Kochen mit Salzsäure l- und d-Asparaginsäure gewonnen werden können (E. Fischer[8]). Ueber die Darstellung der l-Säure aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteïnstoffe siehe § 155 u. § 156. Darstellung.

l-Asparaginsäure krystallisirt in rhombischen Prismen, ist in kaltem Wasser ziemlich schwer löslich (1 Th. in 256 Th. bei 10°), viel leichter Eigenschaften.

---

[1]) Ber. d. d. chem. Ges. **34.** 433. (1901.) [2]) Compt. rend. **84.** 124. (1885.)
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **9.** 122. (1885.)
[4]) Ebendas. **33.** 412. (1901.)
[5]) Henze, Ber. d. d. chem. Ges. **34.** 348. (1901.)
[6]) Ebendas. **17.** 2929. (1884.) [7]) Ebendas. **17.** 2984. (1884.)
[8]) Ebendas. **32.** 2451. (1899.)

löslich in heissem Wasser (1 Th. in 18,6 Th. bei 100°) und auch in Salzlösungen (Schiff). Durch Phosphorwolframsäure wird sie nicht gefällt. Mit Basen und Säuren bildet sie krystallisirende Verbindungen. Versetzt man eine heisse Lösung mit Kupferoxydhydrat oder Kupferacetat, so scheidet sich beim Erkalten asparaginsaures Kupfer $C_4H_5NO_4Cu + 4^1/_2 H_2O$ in blauen, glänzenden Nadeln ab, löslich in kochendem, fast unlöslich in kaltem Wasser (Hofmeister[1]). Durch Einwirkung von Natriumnitrit auf in Salzsäure gelöste Asparaginsäure entsteht Monochlorbernsteinsäure (Sm.-P. 174°) (Jochem[2]).

Benzoylester. Beim Schütteln mit Benzoylchlorid und Natriumbicarbonat oder Kalilauge entsteht Benzoylasparaginsäure (E. Fischer, A. Schultze[3]). Den Diaethylester (Diaethylester.) erhält man nach E. Fischer[4]), indem man mit abs. Alkohol übergossene l-Asparaginsäure durch Einleiten gasförmiger Salzsäure in Lösung bringt, eine Stunde am Rückflusskühler kocht, bei niedriger Temperatur unter vermindertem Druck eindampft, den Syrup in möglichst wenig Wasser löst und nun mit Aether und starker Natronlauge weiter behandelt wie bei Glykocoll (§ 146) beschrieben. Er stellt eine farblose, dickliche Flüssigheit dar, die sich mit Alkohol, Aether, Benzol mischt, sich auch in Wasser sehr leicht löst und unter 11 mm bei 126,5° siedet. Er wird nicht durch Kochen mit Wasser, wohl aber durch ein- bis zweistündiges Erhitzen mit überschüssigem Barytwasser auf dem Wasserbad unter Rückbildung der Asparaginsäure gespalten.

Optische Eigenschaften. Die l-Asparaginsäure ist in wässeriger Lösung bei gewöhnlicher Temperatur schwach rechts drehend, bei 75° inactiv, von da an zunehmend linksdrehend (Cook[5]). Bei Gegenwart von Säure ist Rechtsdrehung vorhanden und zwar beträgt in ungefähr 4 proc. Lösung bei Gegenwart von 3 Mol. Salzsäure $[\alpha]_D^{20^0} = +25,7^0$, bei Gegenwart von Alkali Linksdrehung und zwar beträgt in ungefähr 3,3 proc. Lösung bei Gegenwart von 3 Mol. Natriumhydroxyd $[\alpha]_D^{20^0} = -2,37^0$. Die d-Asparaginsäure zeigt bei Gegenwart von Salzsäure unter denselben Verhältnissen $[\alpha]_D^{20^0} = -25,5^0$ (E. Fischer).

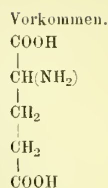
Zersetzungen. Beim Erhitzen mit Phosphorsäure auf 150° giebt sie nur Spuren von Stickstoff, beim Erhitzen mit alkalischer Chlorbariumlösung auf 150° nur Spuren von Kohlensäure ab (Schöndorff). Bei der Einwirkung von salpetriger Säure auf in Salpetersäure gelöste Asparaginsäure erhält man Aepfelsäure.

Nachweis. Zum Nachweis der Asparaginsäure, deren Isolirung nach den §§ 155 und 156 geschicht, dient die Analyse der freien Säure oder ihres Kupfersalzes und die Bestimmung der specifischen Drehung.

---

1) Ann. Chem. Pharm. **189**. 6. (1877.)
2) Zeitschr. f. physiol. Chem. **31**. 119. (1900—1901.)
3) Ebendas. **29**. 467. (1900.)
4) Ber. d. d. chem. Ges. **34**. 433. (1901.)
5) Ebendas. **30**. 294. (1897.)

154. **Glutaminsäure (α-Aminoglutarsäure)** $C_5H_9NO_4$ existirt in der l-, d- und i-Modification. Sie entsteht bei der Trypsinverdauung der Eiweissstoffe und, wie es scheint, auch bei lange fortgesetzter peptischer Verdauung, ferner bei der Zersetzung von Eiweissstoffen, Leim und Keratin durch Kochen mit Säuren in bei den verschiedenen Eiweissstoffen verschiedenen Mengen[1]), auch die spaltende Säure ist von Einfluss auf die Quantität, indem z. B. aus Caseïn durch Kochen mit Salzsäure sehr reichliche, durch Kochen mit Schwefelsäure sehr geringe Mengen entstehen (Kutscher). Auch beim Kochen von Eiweiss mit Barytwasser wird Glutaminsäure gebildet. Sie findet sich in der Melasse. Die durch Säurespaltung erhaltene ist die d-Säure, die durch Barytspaltung bei 150—160° erhaltene ist die i-Säure. Vorkommen.



Die synthetisch durch Reduction von α-Isonitrosoglutarsäure gewonnene (Wolff[2]) ist die inactive Form. Man stellt sie am Besten dar aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit mancher Proteïnkörper z. B. des Caseïns. Ueber das Verfahren siehe § 155 u. § 156. Durch Einwirkung von Penicill. glauc. entsteht aus der i-Säure die l-Säure (E. Schulze und Bosshard[3]). Die i-Benzoylglutaminsäure lässt sich durch Strychnin in l- und d-Benzoylglutaminsäure trennen, aus welchen durch Kochen mit Salzsäure l- und d-Glutaminsäure gewonnen werden können (E. Fischer[4]). Darstellung.

Die d-Säure krystallisirt in klaren, farblosen, diamantglänzenden, rhombischen Octaëdern und Tetraëdern oder auch in kleinen, glänzenden Blättchen, ist in 100 Th. Wasser von 16° und in 1500 Th. 80 proc. Alkohol löslich, in Aether unlöslich und schmilzt beim raschen Erhitzen unter Zersetzung bei 208° (E. Fischer). Die i-Säure löst sich in 66,7 Th. Wasser von 20° (Wolff). Durch Phosphorwolframsäure wird sie nicht gefällt. Sie bildet mit Säuren und Basen krystallisirende Salze. Sättigt man eine wässerige Lösung mit Salzsäuregas, so scheidet sich beim Stehen in der Kälte das salzsaure Salz fast völlig in schönen Krystallen ab. Noch leichter und schöner krystallisirt das bromwasserstoffsaure Salz. Beim Kochen der wässerigen Lösung der Säure mit überschüssigem Kupferoxydhydrat oder Kupfercarbonat erhält man ein Kupfersalz, welches nach dem Einengen schon in der Wärme als schweres, blaues Krystallpulver aus der tiefblauen Lösung krystallisirt $C_5H_7NO_4Cu + 2\,^1/_2H_2O$ (Hofmeister[5]). Eigenschaften.

---

1) Ritthausen u. Kreusler, Journ. f. prakt. Chem. **107**. 240.
Hlasiwetz u. Habermann, Ann. Chem. Pharm. **159**. 304. (1871.) u. **169**. 150. (1873.)
Ritthausen, Die Eiweisskörper der Getreidearten u. s. w. Bonn 1872. S. 215 bis 222.
Kutscher, Zeitschr. f. physiol. Chem. **28**. 123. (1899.)

2) Ann. Chem. Pharm. **260**. 79. (1890.)

3) Zeitschr. f. physiol. Chem. **10**. 143. (1886.)

4) Ber. d. d. chem. Ges. **32**. 2451. (1899.)

5) Ann. Chem. Pharm. **189**. 6. (1877.)

Ein ebensolches, aber in Wasser noch schwerer lösliches Kupfersalz giebt die i-Säure (Wolff). Nach Ritthausen existiren noch Kupfersalze mit anderem Krystallwassergehalt. Durch Einwirkung von Natriumnitrit auf die salzsaure Lösung der Säure entsteht α-Chlorglutarsäure (Jochem[1]).

Benzoylester. Beim Schütteln der Glutaminsäure mit Benzoylchlorid und Natriumbicarbonat oder Natronlauge entsteht Benzoylglutaminsäure (E. Fischer, A. Schultze). Diäthylester. Der d-Glutaminsäurediaethylester[2]), in ähnlicher Weise wie der entsprechende Asparaginsäureester (§ 153) gewonnen, verhält sich auch diesem sehr ähnlich, ist auch in Wasser sehr löslich und siedet bei 10 mm Druck bei 139—140°.

Optische Eigenschaften. Die d-Glutaminsäure zeigt in Lösungen, die 5 pCt. Glutaminsäure und 9 pCt. Salzsäure enthalten, $[\alpha]_D = +31,7^0$ (E. Schulze[3]); in Lösungen, die 5 bis 6 pCt. Glutaminsäure und äquimolekulare Mengen Salzsäure enthalten, $[\alpha]_D^{20^0} = +30,45^0$ (E. Fischer); eine entsprechend hergestellte l-Glutaminsäurelösung $[\alpha]_D^{20^0} = -30,05^0$ (E. Fischer). E. Schulze und Bosshard fanden für l-Glutaminsäure (4 bis 5 pCt. in 8 bis 9 proc. Salzsäure) $[\alpha]_D = -31,1^0$.

Zersetzung. In verdünnter Salpetersäure gelöst giebt die Glutaminsäure beim Einleiten von salpetriger Säure die der Aepfelsäure homologe Oxyglutarsäure $C_5H_8O_5$.

Nachweis. Der Nachweis der stets als salzsaures Salz isolirten (§§ 155 u. 156) Glutaminsäure beruht auf der Analyse der freien Säure oder ihres Hydrochlorats und der Bestimmung der specifischen Drehung.

Darstellung von Aminosäuren aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteïnkörper.

155. **a) von Tyrosin, Leucin, Asparagin- und Glutaminsäure**[4]). Etwa 500 oder 250 g Proteïnsubstanz werden mit 1500 bezw. 750 ccm concentrirter Salzsäure (spec. Gew. 1,19) sechs Stunden am Rückflusskühler gekocht. Das Filtrat wird auf die Hälfte eingeengt, mit Salzsäuregas gesättigt und einige Tage in den Eisschrank gestellt. Die sich ausscheidende Krystallmasse, welche aus salzsaurer Glutaminsäure besteht, wird nach Vermischen mit eiskaltem Alkohol abgesaugt und durch Lösen in wenig Wasser, Kochen mit etwas Thierkohle und abermalige Abscheidung mittelst Salzsäure gereinigt. Aus dem mit Wasser verdünnten Filtrat entfernt man zunächst durch Eindampfen, dann durch Bleioxydhydrat, zuletzt durch Silberoxyd die Salzsäure. Es wird dann soweit con-

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **31**. 119. (1900—1901.)

[2]) E. Fischer, Ber. d. d. chem. Ges. **34**. 433. (1901.)

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **9**. 99. u. 258. (1885.)

[4]) Im Wesentlichen nach Hlasiwetz u. Habermann, Ann. Chem. Pharm. **169**. 150. (1873.) u. E. Schulze, Zeitschr. f. physiol. Chem. **9**. 63. (1885.) u. Journ. f. prakt. Chem. N. F. **7**. 397. (1873.)

centrirt, dass beim Erkalten Tyrosin auskrystallisirt. Die beim weiteren Einengen sich ausscheidenden Krystalle bestehen hauptsächlich aus Leucin. Nach dem Filtriren wird die Flüssigkeit mit Bariumcarbonat erhitzt, um Asparaginsäure und Glutaminsäure in die leicht löslichen Bariumsalze überzuführen und weiter eingedampft. Es erfolgen Krystallisationen hauptsächlich von Leucin. Wenn die Mutterlauge nur noch wenig Krystallinisches liefert, wird sie zunächst zur Zersetzung der vorhandenen Ammoniaksalze mit etwas Barythydrat längere Zeit erhitzt und dann zur Ausfällung von asparaginsaurem und glutaminsaurem Barium mit Alkohol versetzt und zwar, um die Ausfällung von noch vorhandenem Leucin zu verhindern, zunächst nur mit soviel Alkohol, dass die Bariumsalze nur zum Theil niedergeschlagen werden. Die vom Ausgeschiedenen abfiltrirte Lösung wird soweit eingedampft, dass nach dem Erkalten noch etwas Leucin auskrystallisirt. Nach mehrtägigem Stehen filtrirt man ab, versetzt die Mutterlauge wieder mit Alkohol und vereinigt die entstehende Fällung mit der ersten. Diese Niederschläge, welche im Wesentlichen aus asparaginsaurem und glutaminsaurem Barium bestehen, werden durch Lösen in Wasser und Fällen mit Alkohol von beigemengtem Leucin getrennt und in Wasser gelöst. Die Lösung wird mit Schwefelsäure genau vom Barium befreit, eingeengt und mit Salzsäuregas gesättigt. Nach mehrtägigem Stehen im Eisschrank scheidet sich event. noch salzsaure Glutaminsäure aus. Das Filtrat wird durch Eindampfen und Silberoxyd von der Salzsäure befreit, mit Kupfercarbonat gekocht, heiss filtrirt, und nach dem Abkühlen vorsichtig unter Vermeidung eines Ueberschusses mit Bleiessig gefällt. Die abfiltrirte und gut ausgewaschene Fällung wird mit Schwefelwasserstoff zerlegt, das Filtrat eingedampft und mit Kupfercarbonat gekocht. Aus dem Filtrat scheidet sich asparaginsaures Kupfer in charakteristischen Krystallbüscheln ab, aus der eingedampften Mutterlauge noch eine weitere Menge.

Trennung von Leucin und Tyrosin. Um aus den oben erwähnten unreinen Tyrosin- und Leucinkrystallisationen Tyrosin und Leucin rein zu erhalten, wird das Gemenge in kochendem Wasser unter Zusatz von etwas Ammoniak gelöst, die heisse Lösung so lange mit Bleiessig unter Umrühren versetzt, bis der nun entstehende Niederschlag nicht mehr bräunlich, sondern weiss ausfällt; nach dem Filtriren wird bis nahe zum Sieden erhitzt, mit verd. Schwefelsäure schwach angesäuert, um das Ammoniak zu binden und das Blei auszufällen, und schnell filtrirt. Beim Erkalten fällt das Tyrosin fast quantitativ aus. Die Lösung wird nun durch Schwefelwasserstoff vom Blei befreit, eingeengt, siedend heiss mit frisch gefälltem Kupferoxydhydrat im Ueberschuss versetzt und ein paar Minuten gekocht. Der Niederschlag, welcher einen Theil des Leucins enthält, wird in kochendem Wasser zertheilt, mit Schwefelwasserstoff zerlegt und die Masse nach Zufügen von wenig Essigsäure filtrirt. Aus dem mit Thierkohle entfärbten und auf ein kleines Volumen eingedampften Filtrat scheidet sich beim Erkalten

Trennung von Leucin u. Tyrosin.

Leucin ab. Der andere Theil des Leucins ist in der lasurblauen Lösung, die beim Kochen mit Kupferoxydhydrat gewonnen war, enthalten. Das aus ihr auf die eben beschriebene Weise isolirte Leucin ist weniger rein, als das aus dem Kupferniederschlag erhaltene. Durch Umkrystallisiren aus ammoniakalischem Alkohol können Tyrosin und Leucin gereinigt werden. Zur völligen Reinigung des Leucins, die durch Umkrystallisiren nur sehr schwer, bei kleinen Mengen gar nicht erreicht werden kann, empfiehlt sich die Ueberführung in den Aethylester (§ 151).

Veresterungs-verfahren von E. Fischer.

156. **b) von Aminofettsäuren, Phenylalanin, α-Pyrrolidincarbonsäure**[1]. Dieses Verfahren von E. Fischer beruht im Wesentlichen auf der fractionirten Destillation der Ester. Die Säuren werden mit Salzsäure und Alkohol verestert, die Ester aus den Chlorhydraten durch conc. Alkali bei niederer Temperatur abgeschieden und unter sehr niedrigem Druck destillirt. Die Methode bedeutet einen wesentlichen Fortschritt, wenn auch die Isolirung der in den einzelnen Fractionen enthaltenen Säuren immer noch eine sehr schwierige und zum Theil undurchführbare ist.

Darstellung der salzsauren Ester.

Man verfährt zunächst u. z. bis zur Abscheidung der auskrystallisirten salzsauren Glutaminsäure durch Absaugen in der § 155 angegebenen Weise. Das Filtrat wird unter stark vermindertem Druck bis zum dicken Syrup eingedampft, sofort mit absol. Alkohol (3000 bezw. 1500 ccm) übergossen und durchgerührt und mit gasförmiger Salzsäure, ohne zu kühlen, gesättigt. Man kocht schliesslich noch 1 Stunde auf dem Wasserbad, wobei eine völlige Lösung und weitere Veresterung stattfindet. Nach dem Abkühlen bringt man die alkoholische Lösung in eine Kältemischung, impft mit einem Krystall von salzsaurem Glykocollester und lässt 48 Stunden im Eisschrank stehen. Dann hat sich in der Regel der allergrösste Theil des salzsauren Glykocollesters als Krystallbrei abgeschieden und kann abgesaugt werden. Da sich bei der Veresterung ziemlich viel Wasser, welches der Reaction entgegenwirkt, bildet, ist es vortheilhaft, die alkoholische Mutterlauge unter stark vermindertem Druck einzudampfen, den Rückstand wieder in 2 bezw. 1 Liter absol. Alkohol zu lösen und neuerdings mit gasförmiger Salzsäure in der beschriebenen Weise zu behandeln. Bleibt die Flüssigkeit jetzt bei niederer Temperatur stehen, so kann namentlich beim Einimpfen eines Krystalls noch eine neue Krystallisation von salzsaurem Glykocollester stattfinden. Nachdem die salzsaure alkoholische Mutterlauge noch ein drittes Mal derselben Behandlung unterworfen ist, wird die Flüssigkeit der bequemeren Handhabung wegen in 4 bezw. 2 Theile getheilt und bei einer 40° nicht übersteigenden Temperatur des

---

[1]) E. Fischer, Zeitschr. f. physiol. Chem. **33.** 151 u. 412. (1901.)
E. Fischer u. Skita, Ebendas. S. 177. (1901.)
Fischer, Levene u. Aders, Ebendas. **35.** 70. (1902.)

Wasserbades unter stark vermindertem Druck zum dicken Syrup eingedampft.

Um nun die Ester aus ihren salzsauren Verbindungen zu befreien, verfährt man so: Der dicke Syrup wird direkt in dem Destillationskolben ungefähr mit dem halben Vol. Wasser versetzt. Jetzt fügt man zu der sorgfältig in einer Kältemischung gekühlten Flüssigkeit vorsichtig so viel starke Natronlauge, dass die freie Salzsäure ungefähr neutralisirt ist, und dann eine möglichst concentrirte Lösung von Kaliumcarbonat und ziemlich viel Aether. Diese erste Operation hat den Zweck, die schwächer basischen Ester der Asparagin- und Glutaminsäure, welche gegen freies Alkali besonders empfindlich sind, abzuscheiden. Nach gutem Durchschütteln wird der Aether abgegossen, durch neuen ersetzt und zu der wiederum sehr sorgfältig gekühlten Masse in verschiedenen Portionen 33 proc. Natronlauge und festes Kaliumcarbonat zugegeben. Nach jedesmaligem Zusatz wird kräftig umgeschüttelt, um das Alkali in der steifen Masse zu vertheilen und den freigewordenen Ester sofort in die ätherische Lösung überzuführen. Es ist vortheilhaft den Aether mehrmals zu erneuern. Die Menge des Alkalis muss wenigstens so gross sein, dass sie zur Bindung sämmtlicher Salzsäure ausreicht und Kaliumcarbonat ist so viel zuzufügen, dass die Salzmasse einen dicken Brei bildet; denn nur dann werden die in Wasser äusserst leicht löslichen Ester der einfachen Aminosäuren völlig ausgesalzen. Ganz besonders gilt das für die Fälle, wo Alanin zu isoliren ist. Darstellung der freien Ester.

Die vereinigten ätherischen Auszüge, welche braungefärbt sind, werden etwa 5 Min. mit Kaliumcarbonat geschüttelt, dann abgegossen und 12 Std. mit entwässertem Natriumsulfat getrocknet (die übrigen Trockenmittel, selbst Kaliumcarbonat, zersetzen bei längerer Einwirkung). Nach dem Verdampfen des Aethers wird der Rückstand bei 8—15 mm Druck über freier Flamme destillirt*). Bis 40° geht in der Regel noch etwas Alkohol über, dann fängt man eine Reihe von Fractionen annähernd innerhalb folgender Temperaturgrenzen auf: Fractionirte Destillation der Ester.

Fraction:	bei:	kann enthalten:
1.	40—55°	Glykocoll, Aminovaleriansäure, Alanin;
2.	55—80°	Aminovaleriansäure, Alanin, Leucin, α-Pyrrolidincarbonsäure;
3.	80—100°	Aminovaleriansäure, Leucin, α-Pyrrolidincarbonsäure:
4.	100—130°	Asparaginsäure, Glutaminsäure, Phenylalanin.
5.	130—160°	

Die Untersuchung der einzelnen Fractionen beginnt im Allgemeinen mit der Verseifung der Ester. Diese ist bei den niedriger siedenden Fractionen durch sieben- bis achtstündiges Kochen mit Wasser am Rückflusskühler zu bewerkstelligen, bei den höher siedenden, welche Asparaginsäure und Verseifung der Ester.

*) Da manche Aminosäureester bei diesem Druck noch zersetzt werden, empfiehlt E. Fischer neuerdings die Destillation bei etwa 0,5 mm Druck auszuführen. Zeitschr. f. physiol. Chem. **35**. 78. (1902.)

Glutaminsäure enthalten, durch 1—2stündiges Erhitzen mit 20proc. Barytwasser auf dem Wasserbad und zwar möglichst bald, bei den niedrigsten Fractionen schon innerhalb 24 Stunden, da beim Aufbewahren eine allmähliche Zersetzung der Ester stattfindet.

Für die weitere Untersuchung genaue Vorschriften zu geben, ist unmöglich, doch ergeben sich aus den Arbeiten E. Fischer's eine Reihe von Anhaltspunkten.

1. Bei den ersten drei Fractionen sucht man eine Trennung zu erreichen durch Abscheidung verschiedener Krystallisationen beim successiven Eindampfen und Erkaltenlassen, Versetzen der letzten Mutterlauge mit Alkohol, Umkrystallisiren aus Alkohol, Auskochen mit Alkohol, Ueberführung in Kupfersalze, Trennung derselben durch ihre verschiedene Löslichkeit in Alkohol und Wasser. Dabei ist zu bemerken, dass die Löslichkeit der freien Säure und der Kupfersalze durch die Anwesenheit anderer Säuren bezw. Kupfersalze verändert wird, ferner dass verschiedene Kupfersalze zusammen krystallisiren können, wie das beim Leucinkupfer und aminovaleriansauren Kupfer beobachtet worden ist.

2. Um in der 4. und 5. Fraction den Phenylalaninester (durch die Kochprobe mit Schwefelsäure und Kaliumbichromat leicht nachweisbar) von den leicht löslichen Estern der Asparagin- und Glutaminsäure zu trennen, wird das Gemisch mit der siebenfachen Menge kalten Wassers geschüttelt und der als Oel ausgeschiedene Phenylalaninester auf einem nassen Papierfilter gesammelt. Jetzt erst findet die Verseifung des Filtrats durch Kochen mit Barytwasser statt. Beim Abkühlen scheidet sich ein Theil der Asparaginsäure als unlösliches Barytsalz aus.

Ist die Menge des sich als Oel abscheidenden Phenylalaninesters sehr gering, so verseift man, ohne zu filtriren, und fällt aus der stark concentrirten wässerigen Lösung das Phenylalanin durch Einleiten von Salzsäuregas als Chlorhydrat. Dieses Salz wird durch Umkrystallisiren aus starker Salzsäure gereinigt, dann in wässeriger Lösung mit Natriumacetat zersetzt und das ausgeschiedene Phenylalanin aus heissem Wasser unter Zusatz von Thierkohle umkrystallisirt.

Zur Gewinnung der Glutaminsäure kann man einen Theil des Estergemisches durch Abdampfen mit verdünnter Salzsäure verseifen, den Rückstand in wenig Wasser lösen und die Lösung mit Salzsäuregas sättigen. Aus den abgeschiedenen und durch Umkrystallisiren aus Salzsäure gereinigten Chlorhydraten der Glutaminsäure und des Phenylalanins erhält man bei der Zersetzung mit der berechneten Menge Alkali die freie Glutaminsäure, welche durch mehrmaliges Umkrystallisiren aus heissem Wasser vom Phenylalanin befreit wird.

3. Da manche der durch die Estermethode isolirten Säuren (Leucin, Alanin, Phenylalanin, Asparaginsäure, α-Pyrrolidincarbonsäure) theilweise racemisirt sind, ist es für die Isolirung der einzelnen Säuren durch Kry-

stallisation und ihre Identificirung oft rathsam, die ganze Menge oder schon abgetrennte Theiledurch Erhitzen mit Barytwasser unter Druck völlig zu racemisiren.

Darstellung der Phenylisocyanatverbindungen.

4. Für die Identificirung mancher Aminosäuren leistet die Ueberführung in die Phenylisocyanatverbindung und deren Anhydrid oft gute Dienste. Um diese Verbindungen darzustellen[1]), löst man die Säure in der zur Neutralisation nöthigen Menge Normallauge, fügt unter starker Abkühlung und Schütteln die erforderliche Menge Phenylisocyanat allmählich hinzu, schüttelt weiter bis zum Verschwinden des Cyanatgeruchs, zuletzt unter Zusatz von Thierkohle, filtrirt und säuert an. Dabei fällt eine meist harzige Masse aus, die allmählich krystallinisch wird und aus Wasser bezw. aus verdünntem Alkohol umkrystallisirt wird. Kocht man diese Phenylisocyanatverbindung mit 25 proc. Salzsäure, und dampft dann ein, so scheidet sich das Anhydrid krystallinisch aus. Ueber die Schmelzpunkte dieser Verbindungen siehe die bei den einzelnen Säuren gemachten Angaben.

Schwefelhaltige Aminosäuren.

Vorkommen.

CH_2-NH_2
$|$
$CH_2-SO_2(OH)$

157. **Taurin (Aminoäthylsulfosäure) $C_2H_7NSO_3$** wurde zuerst als Zersetzungsproduct der Taurocholsäure erhalten. Es findet sich auch bei verschiedenen, besonders kaltblütigen Thieren, in der Muskelflüssigkeit, sowie in dem Safte der Lunge und Niere von Rindern.

Darstellung.

Synthetisch gewinnt man es beim Erhitzen von chloräthylsulfosaurem Silber mit Ammoniak (Kolbe) oder auch durch Verdampfen einer Lösung von Vinylamin mit überschüssiger schwefliger Säure auf dem Wasserbade (Gabriel[2]). Aus der Rindergalle gewinnt man es am Reichlichsten durch mehrstündiges Kochen der Galle mit verdünnter Salzsäure, Abfiltriren der wässrigen Flüssigkeit von den harzartig ausgeschiedenen Gallensäuren, Eindampfen zur Trockne, Lösen des Rückstandes in 5 proc. Salzsäure und Fällen mit dem zehnfachen Volumen Alkohol von 95 Vol.-pCt.[3]) Es scheidet sich Taurin ab, während salzsaures Glykocoll in Lösung bleibt. Das Taurin wird nochmals in Salzsäure gelöst, wieder durch Alkohol gefällt und dann durch Umkrystallisiren aus warmem Wasser gereinigt.

Eigenschaften.

Es krystallisirt in farblosen, oft sehr grossen, lebhaft glänzenden vier- oder meist sechsseitigen Prismen und vierseitigen Pyramiden an beiden Enden der Prismen, löst sich in 15—16 Theilen kaltem, viel leichter in heissem Wasser, ist unlöslich in absolutem Alkohol oder Aether, wenig löslich in kaltem, leichter in heissem Alkohol. Seine Lösungen reagiren neutral.

---

[1]) Paal, Ber. d. d. chem. Ges. **27**. 974. (1894.)
Mouneyrat, Ebendas. **33**. 2393. (1900.)

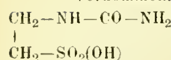
[2]) Ber. d. d. chem. Ges. **21**. 2667. (1888.)

[3]) Hammarsten, Zeitschr. f. physiol. Chem. **32**. 456. (1901.)

In Alkalien ist es löslicher als in reinem Wasser. Durch Metallsalze wird es aus seinen Lösungen nicht gefällt, ebenso wenig durch Phosphormolybdaensäure. Es bildet mit Säuren keine Salze. Feuchtes Quecksilberoxyd in siedende Lösung von Taurin portionsweise eingetragen, fällt dasselbe als Taurinquecksilberoxyd, wenig löslich in kaltem und heissem Wasser, unlöslich in Alkohol[1]). Beim Erhitzen zersetzt es sich nicht unter 240°, kann mit schwacher Alkalilauge oder Säure, selbst conc. Salzsäure ohne Zersetzung gekocht werden. Durch Einwirkung von salpetriger Säure wird es zu Isäthionsäure, Stickstoff und Wasser oxydirt; beim Kochen mit starker Kalilauge liefert es Essigsäure und schweflige Säure, keinen Schwefelwasserstoff.

Nachweis. Eine Trennung des Taurins von anderen Körpern, sowie sein Nachweis sind trotz des Mangels eigentlicher charakteristischer Reactionen wegen der Nichtfällbarkeit dieses Stoffes durch Metallsalze, wegen seiner Schwerzersetzlichkeit und wegen des reichen Gehalts an Schwefel meist nicht schwierig. Die Verbindung mit Quecksilberoxyd kann zur Isolirung dienen.

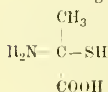
Vorkommen. 158. **Taurocarbaminsäure** $C_3H_8N_2SO_4$ findet sich im menschlichen Harne nach Einnahme von Taurin, wahrscheinlich in geringer Menge auch im normalen Harne ohne Taurineinnahme.


$CH_2-NH-CO-NH_2$ | $CH_2-SO_2(OH)$

Darstellung. Ihr Kalisalz wird künstlich erhalten durch Erwärmen von Taurin in concentrirter wässeriger Lösung mit der hinreichenden Menge cyansaurem Kali und Fällung durch Alkohol. Um sie aus Harn darzustellen, fällt man ihn zunächst mit Bleiessig aus, filtrirt nach 24 stündigem Stehen, entfernt aus dem Filtrat das Blei durch Schwefelwasserstoff und dampft stark ein. Wenn nöthig muss dieses Reinigungsverfahren mehrmals wiederholt werden, dann wird mit abs. Alkohol ausgefällt, der Niederschlag in Wasser gelöst, die Lösung mit Thierkohle entfärbt, eingeengt und die Fällung mit Alkohol wiederholt. Aus dem hierbei resultirenden rohen Alkali- oder Kalksalz wird die Säure durch Behandlung mit Alkohol und Schwefelsäure frei gemacht und durch Abdampfen bei niederer Temperatur als Syrup erhalten, aus dem sie sich in krümlicher Masse abscheidet. Hinsichtlich der Reinigung der Säure vergl. die Arbeiten von Salkowski[2]).

Eigenschaften. Die reine Säure krystallisirt wasserfrei in glänzenden, quadratischen Blättchen, sie ist leicht löslich in Wasser, schwer in Alkohol, unlöslich in Aether. Das Barytsalz krystallisirt aus heissem Alkohol in kleinen, stark glänzenden, zu Drusen vereinigten rhombischen Tafeln. Mit Barytwasser auf 140° erhitzt zersetzt sich die Säure in Taurin, Kohlensäure und Ammoniak.

Darstellung. 159. **Cysteïn (Aminothiomilchsäure)** $C_3H_7NSO_2$ entsteht aus Cystin durch Reduction mit Zinn und Salzsäure[3]). Entfernt man das Zinn durch Schwefelwasserstoff, verdunstet schnell, löst den Trockenrückstand in Alkohol und neutralisirt die Lösung mit Ammoniak, so scheidet es sich als feinkörniger, in Wasser ziemlich leicht, auch in Ammoniak, Mineralsäuren und Essigsäure löslicher Niederschlag ab. Mörner erhielt es auch krystallisirt. Es entsteht in geringer Menge neben Cystin bei über eine Woche fortgesetzter Spaltung der Proteïnstoffe (Mörner). Vergl. dazu Embden, der es beim Kochen mit conc. Salzsäure aus Eiweissstoffen auch ohne Cystin erhielt. Cysteïn wird


CH_3 | $H_2N-C-SH$ | $COOH$

Eigenschaften.

[1]) Lang, Maly's Jahresber. f. Thierchem. 1876. S. 74.
[2]) E. Salkowski, Ber. d. d. chem. Ges. **6**. 744 u. 1191. (1873.)
[3]) Baumann, Zeitschr. f. physiol. Chem. **8**. 299. (1883—1884.) Ber. d. d. chem. Ges. **18**. 258. (1885.)

in wässeriger oder schwach salzsaurer Lösung durch Sublimat gefällt. In wässeriger Lösung geht es an der Luft bald in krystallinisches Cystin über. Dieselbe Umwandlung erfolgt schnell durch Jod und auch, wenn auch weniger gut, durch Eisenchlorid. Cysteïn zeigt schwache Linksdrehung, vielleicht auch schwache Rechtsdrehung.

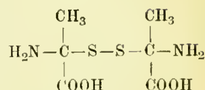
Phenylcysteïn stellten Baumann und Preusse aus der Bromphenylmercaptursäure dar[1]).

Nachweis.

Zum Nachweis des Cysteïns dienen folgende Reactionen, welche man mit wässerigen Lösungen anstellt:

1. Schwarzfärbung beim Kochen mit Alkali und Bleiacetat (wie Cystin).
2. Vorübergehende Violettfärbung auf Zusatz von Kupfersulfat (Suter[2]).
3. Indigoblaue, fast augenblicklich verschwindende Färbung auf Zusatz von Eisenchlorid.
4. Starke purpurrothe Färbung auf Zusatz von Nitroprussidnatrium und Natronlauge. Dieselbe geht bald in Rothbraun über und verschwindet. Fügt man jetzt Essigsäure hinzu und kocht, so entsteht Berlinerblau. Diese Reaction tritt noch ein bei einer Verdünnung von 1 : 50000.

Vorkommen.



160. **Cystin** $C_6H_{12}N_2S_2O_4$. Cystin, das Disulfid des Cysteïns (§ 159), entsteht, wie K. A. H. Mörner[3]) fand, bei der Säurespaltung von Keratin- und Eiweisssubstanzen, ebenso bei der tryptischen Verdauung von Fibrin (R. Külz[4]). Es ist aus der Leber vom Delphin und Pferd[5]) und in Spuren aus der Rinderniere[6]) und der Niere eines Säufers[7]) isolirt worden. In geringer Menge wurde Cystin oder ein cystinähnlicher Körper im normalen Harn von Menschen und Hunden, reichlicher bei Phosphorvergiftung gefunden (Goldmann und Baumann[8]). In grösserer Quantität erscheint es in seltenen Fällen in diesen Harnen und zwar entweder in gelöster Form und beim Stehen als krystallinisches, grauweisses Sediment sich abscheidend oder als einziger oder hauptsächlicher Bestandtheil von Blasensteinen. Auch Nierensteine bestehen zuweilen im Wesentlichen oder ausschliesslich aus Cystin, nach Spiegel[9]) finden sich in ihnen häufig geringe Mengen.

Darstellung aus Haaren oder Horn.

Seine Darstellung aus Keratin oder Eiweisssubstanzen (am Besten eignen sich ihrer reichen Ausbeute wegen Menschenhaare oder auch Hornspähne) geschieht nach Mörner in folgender Weise: Einige hundert Gramm des mit Aether und Salzsäure extrahirten Materials werden mit der fünffachen Menge einer etwa 13 proc. Salzsäure auf dem Wasserbad am Rückflusskühler bei 90—95° sechs bis sieben Tage erhitzt. Die filtrirte und

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **5**. 337. (1881.) 2) Ebendas. **20**. 564. (1895.)
3) Ebendas. **28**. 595. (1899.) u. **34**. 207. (1901—1902.)
4) Zeitschr. f. Biol. **27**. 415. (1890.)
5) Drechsel, Zeitschr. f. Biol. **33**. 85. (1896.) Arch. f. Physiol. physiol. Abthlg. 1891. S. 243.
6) Cloetta, Ann. Chem. Pharm. **99**. 299. (1856.)
7) Scherer, Jahresb. über die Fortschr. der Chem. 1857. S. 561.
8) Zeitschr. f. physiol. Chem. **12**. 254. (1888.) Brenzinger, Ebendas. **16**. 552. (1892.)
9) Arch. f. pathol. Anat. **166**. 364. (1901.)

mit Thierkohle entfärbte Flüssigkeit wird im Vacuum eingeengt, der Rückstand mit 60—70 proc. Alkohol aufgenommen und die Lösung durch Neutralisation mit Natronlauge ausgefällt. Der abfiltrirte Niederschlag besteht hauptsächlich aus Tyrosin und Cystin. Man trennt das Gemenge durch fractionirte Krystallisation aus Ammoniak. Ueberwiegt das Tyrosin, so stellt man eine nicht zu verdünnte Lösung her und entfernt den grössten Theil des Ammoniaks durch Verdunsten im Vacuum: es scheidet sich dann das Tyrosin zum grössten Theil ab, während das Cystin fast vollständig in Lösung bleibt. Enthält das Gemenge nur wenig Tyrosin, so bereitet man eine verdünntere Lösung: beim Einengen im Vacuum krystallisirt das Cystin zunächst aus. Für die Beurtheilung der fortschreitenden Reinheit des Präparates ist die Millon'sche Reaction von Nutzen: eine heisse Tyrosinlösung giebt mit einigen Tropfen Millon's Reagens keine Fällung, aber beim Kochen Rothfärbung und Trübung; eine heisse Cystinlösung bei der gleichen Behandlung reiche weisse Fällung und beim Kochen keine Färbung. Embden[1]) empfiehlt zur Trennung von Tyrosin und Cystin verdünnte Salpetersäure, in der sich letzteres sehr schwer, ersteres sehr leicht löst. Auch mit Hülfe von Phosphorwolframsäure werden sich beide von einander trennen lassen (Winterstein[2]). Aus Haaren erhielt Mörner ungefähr 11 pCt., aus Horn 4 bis 5 pCt. Aus Cystinsteinen oder Harnsedimenten gewinnt man Cystin durch Lösen in Ammoniak und Verdunstenlassen bei gewöhnlicher Temperatur in schönen, stets farblosen Krystallen.

Darstellung aus Cystinsteinen oder Sedimenten.

Eigenschaften.

Das Cystin ist in kaltem Wasser nur wenig löslich (1 : 9000 bei 17°), in heissem etwas reichlicher, unlöslich in Alkohol und Aether, leicht löslich in Alkalien, Ammoniak und kohlensauren Alkalien, aber nicht in kohlensaurem Ammoniak. In Mineralsäuren und Oxalsäure löst es sich, in Essigsäure oder Weinsäure nicht. Aus ammoniakalischen Lösungen krystallisirt es in sechsseitigen Tafeln oder Rhomboëdern, solange es unrein ist auch oft in Kugeln.

Kocht man bei der oben beschriebenen Darstellung statt einer Woche zwei Wochen, so werden Cystinpräparate erhalten, die in mehrfacher Beziehung vom typischen Cystin abweichen. Sie krystallisiren in Nadeln oder ähnlichen Krystallformen und zeigen ein anderes Drehungsvermögen (schwächere Linksdrehung bis zu schwacher Rechtsdrehung). Das optisch ganz schwach wirksame Cystin krystallisirt in langen, oft zu Büscheln vereinigten Nadeln, wie Tyrosin, oder in langen, schmalen Blättchen, ist in Wasser etwas löslicher und wird aus der alkalischen Lösung durch Essigsäure weniger leicht abgeschieden. Durch mehrtägiges Erhitzen mit Salzsäure geht auch das typische Cystin in diese jedenfalls stereoïsomere Modification über (Mörner).

In der Hitze hergestellte und abgekühlte Lösungen geben reichliche Niederschläge mit Mercurinitrat und Millon's Reagens, geringe Trübungen mit Sublimat, Kupferacetat, Bleiessig, Silbernitrat. Phosphorwolframsäure

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **32**. 94. (1901.) [2]) Ebendas. **34**. 153. (1902.)

ruft in der schwefelsauren Cystinlösung eine allmählich entstehende krystallinische Fällung hervor (Winterstein).

Mit Mineralsäuren und Basen bildet es krystallisirende Salze, von denen die ersteren leicht zersetzlich sind. Das salzsaure Salz $C_6H_{12}N_2S_2O_4 . 2HCl$ krystallisirt in Prismen (Mauthner[1]). Beim Kochen von Cystin in wässeriger Suspension mit Kupferoxydhydrat oder auch beim Versetzen einer salzsauren Lösung mit einem kleinen Ueberschuss von Kupferacetat erhält man in Kügelchen und himmelblauen Nadelbüscheln krystallisirendes Cystinkupfer $C_6H_{10}N_2S_2O_4Cu$ (Embden, Mauthner). Auch nicht gelöstes Cystin geht mit Kupferacetat zusammengebracht fast ganz in die krystallisirende Kupferverbindung über (vermuthlich zum mikrochemischen Nachweis geeignet). Salze.

Beim Schütteln mit Natronlauge und Benzoylchlorid scheidet sich das Natronsalz des Dibenzoylcystins $C_6H_8N_2S_2O_4Na_2 . 2C_6H_5CO$ als voluminöser Niederschlag von seidenglänzenden Nadeln ab. Die aus der verdünnten Lösung dieser Verbindung auf Zusatz stärkerer Säuren gallertartig ausfallende freie Säure krystallisirt aus Alkohol in zu blumenkohlartigen Massen vereinigten, feinen Nadeln vom Sm.-P. 180—181° (Goldmann und Baumann, Brenzinger). Benzoylverbindung.

Cystin zeigt starke linksseitige Circumpolarisation. Für aus Harnsteinen dargestellte Präparate fanden in ammoniakalischer Lösung Külz[2]) $[\alpha]_j = -142°$, in salzsaurer Lösung Mauthner[3]) (0,8—2 proc. Lösungen) $[\alpha]_D = -205,86°$, Baumann[4]) (2 proc. Lösung) $[\alpha]_D = -214°$. Für ein aus Keratin dargestelltes Präparat in salzsaurer Lösung fand Mörner (1,8 proc. Lösung) $[\alpha]_D = -224,3°$. Optische Eigenschaften.

Beim Erhitzen zerlegt sich Cystin unter Bildung eines übelriechenden Oels. Beim Kochen mit Alkalien oder Barytwasser bildet sich Schwefelmetall, Ammoniak und Brenztraubensäure bezw. Kohlensäure, Oxalsäure und Uvitinsäure[5]). Die Abspaltung von Schwefelwasserstoff geht aber nur langsam vor sich und ist nicht vollständig. Bei sieben- bis achtstündigem Kochen mit 50 g Natriumhydroxyd, 10 g Bleiacetat und 200 ccm Wasser und einem ganz kleinen Stückchen Zink am Rückflusskühler wird die maximale Menge Schwefel als Schwefelwasserstoff abgespalten d. h. 75 pCt. der Gesammtschwefelmenge (Mörner). Bei der Oxydation mit Wasserstoffsuperoxyd entsteht unterschweflige Säure (Spiegel); bei der Reduction mit Zinn und Salzsäure oder auch mit Schwefelwasserstoff entsteht Cysteïn. Zersetzungen.

Zum Nachweis des Cystins dienen ausser der Krystallform und den Löslichkeitsverhältnissen folgende beide Proben: Nachweis.

---

[1]) Zeitschr. f. Biol. N. F. **42**. 176. (1901.)
[2]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **15**. 1401. (1882.)
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **7**. 225. (1883.)
[4]) Ebendas. **8**. 303. (1884.)
[5]) Baumann, Ber. d. d. chem. Ges. **15**. 1731. (1882.)

1. Kocht man etwas Cystin mit ein paar Tropfen Natronlauge auf einem Silberblech, so entsteht ein nicht wegzuwaschender brauner oder schwarzer Fleck von Schwefelsilber.

2. Kocht man Cystin mit Alkalilauge bei Gegenwart von Bleiacetat, so tritt Schwarzfärbung durch gebildetes Schwefelblei ein. Proteïnkörper, welche diese Reaction auch geben, dürfen nicht zugegen sein.

Zum Nachweis des Cystins oder der cystinähnlichen Substanz im Harn schüttelt man etwa einen Liter mit 10 ccm Benzoylchlorid und 120 ccm 10 proc. Natronlauge bis zum Verschwinden des Benzoylchloridgeruches, filtrirt vom Niederschlag (Benzoylverbindungen der Kohlehydrate und Phosphate) ab, säuert das Filtrat mit 10 ccm 25 proc. Schwefelsäure an und schüttelt dreimal mit dem gleichen Vol. Aether aus. Den beim Verdunsten des Aethers hinterbleibenden Rückstand, welcher das Benzoylcystin enthält, prüft man durch mehrstündiges Erwärmen auf dem Wasserbade mit Natronlauge und einigen Tropfen Bleiacetat auf Bildung von Schwefelblei. Den Aetherextractrückstand kann man auch zur quantitativen Bestimmung des Cystins benutzen[1]).

Melolonthin $C_5H_{12}N_2SO_3$ wurde von Schreiner[2]) ein Körper genannt, der durch Extraction von Maikäfern mit Wasser, Abscheidung der Eiweissstoffe durch Kochen, Eindampfen, Fällen mit Bleiessig, Entfernung des Bleis aus dem Filtrate durch Schwefelwasserstoff, weiteres Eindampfen, Abscheidung der Harnsäure und nachheriges Einengen zum Syrup neben viel Leucin erhalten wurde. Aus Wasser unter Zusatz einiger Tropfen Ammoniak umkrystallisirt, bildet das Melolonthin farblose, seideglänzende, harte, zwischen den Zähnen knirschende Krystalle, die sich schwer in kaltem, leichter in heissem Wasser, wenig in Weingeist, gar nicht in Alkohol, leicht in Alkalien und kohlensauren Alkalien, ebenso in Schwefelsäure, Salzsäure, Salpetersäure, Weinsäure, weniger in Essigsäure lösen. Seine wässrigen Lösungen reagiren neutral. Beim Kochen der Lösung des Melolonthins mit Alkalien und Bleiacetat scheidet sich Schwefelblei aus.

Diaminosäuren, Histidin, Carnosin.

161. **Diaminoessigsäure***) $C_2H_6N_2O_2$. Sie wurde unter den Säurespaltungsproducten des Caseïns von Drechsel[3]) aufgefunden, krystallisirt in flachen Prismen, ist in Wasser leicht löslich, in Alkohol unlöslich und bildet beim Schütteln mit Benzoylchlorid und Natronlauge eine in farblosen Prismen krystallisirende Monobenzoylverbindung, die sich in kaltem Wasser wenig, in kochendem leicht, in Alkohol fast gar nicht löst und bei 227° schmilzt. Diese Verbindung, welche zur Isolirung der Säure diente, zerfällt beim Erhitzen mit Salzsäure und Alkohol im Rohr auf 140° in Benzoësäureäthylester und salzsaure Diaminoessigsäure.

---

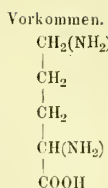
*) Nach Willstätter ist diese Verbindung vermuthlich nicht als Diaminoessigsäure zu bezeichnen. Ber. d. d. chem. Ges. **35**. 1378. (1902.)

[1]) v. Udránszky u. Baumann, Zeitschr. f. physiol. Chem. **15**. 88. (1891.)

[2]) Ann. Chem. Pharm. **161**. 252. (1872.)

[3]) Ber. d. k. sächs. Gesellsch. d. Wiss. **44**. 115. (1892.)

162. **Ornithin** (*α, δ*-**Diaminovaleriansäure**) $C_5H_{12}N_2O_2$. Von den drei stereoïsomeren Modificationen ist eine optisch active und die inactive bekannt. Es entsteht aus dem Arginin beim Kochen mit Barytwasser (E. Schulze und Winterstein[1]). Zuerst wurde es von Jaffé[2]) aus Ornithursäure und Pyromucinornithursäure durch Kochen mit Salzsäure dargestellt. In beiden Fällen handelt es sich um die active Form[3]). Das synthetisch von E. Fischer[4]) erhaltene ist i-Ornithin. Vorkommen.



Ornithin krystallisirt nicht. Die wässerige Lösung reagirt stark alkalisch. Sie löst Kupferoxydhydrat und Quecksilberoxyd; sie wird gefällt durch Phosphorwolframsäure, Sublimat, Mercurinitrat, Goldchlorid, Kaliumwismuthjodid, eine nicht zu verdünnte auch durch Pikrinsäure, nicht gefällt durch Kaliumquecksilberjodid, Nessler's Reagens und auch nicht durch Silbernitrat und Barytwasser (Unterschied von Arginin und zur Trennung von beiden Basen zu benutzen). Die Salze, welche in Wasser leicht löslich, in Alkohol fast unlöslich sind, werden durch Versetzen ihrer conc. wässerigen Lösungen mit Alkohol meist zum Krystallisiren gebracht. $C_5H_{12}N_2O_2 . HNO_3$ bildet breite, farblose Krystallblätter, das salzsaure Salz (1—2 Mol. Salzsäure auf 1 Mol. Ornithin) mikroskopische Blättchen, die in Methylalkohol leicht löslich sind. $C_5H_{12}N_2O_2 . 2HCl . PtCl_4$ ist in Wasser leicht löslich. Auch das pikrinsaure und phosphorwolframsaure Salz wurde krystallisirt erhalten. Eigenschaften des Ornithins und seiner Salze.

Beim Schütteln mit Benzoylchlorid und Natronlauge geht Ornithin in Dibenzoylornithin (Ornithursäure, s. d.) über. Benzoylverbindung.

Schüttelt man Ornithin in alkalischer Lösung mit Phenylisocyanat, fällt nach mehrstündigem Stehen mit Salzsäure, versetzt den Niederschlag mit etwas 25 proc. Salzsäure und dampft auf dem Wasserbad auf die Hälfte des Volumens ein, so scheidet sich das Hydantoïn der Isocyanatverbindung $C_{19}H_{20}N_4O_3$ ab. Dasselbe schmilzt, aus einem Gemisch von Alkohol und Aceton (7 : 1) umkrystallisirt, bei 191 bis 192° (Herzog[5]). Phenylisocyanatverbindung.

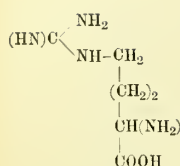
Das salzsaure Ornithin zeigt in 5 proc. Lösung $[\alpha]_D = +16{,}8°$. Optische Eigenschaften.

Bei der trockenen Destillation scheint Pyrrolidin zu entstehen. Mit Natronlauge erwärmt entwickelt sich spermaähnlicher Geruch. Fäulnissbacterien bilden aus Ornithin Tetramethylendiamin (Ellinger[6]). Zersetzungen.

163. **Arginin** (**Guanidin**-*α*-**Aminovaleriansäure**) $C_6H_{14}N_4O_2$. Es ist in einer activen und der inactiven Modification bekannt. Von E. Schulze und Steiger[7]) in den Cotyledonen der Lupinensamen und etiolirten Kürbis- Vorkommen.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **26**. 1. (1898—1899.)
[2]) Ber. d. d. chem. Ges. **10**. 1926. (1877.) u. **11**. 406. (1878.)
Jaffé u. Cohn, Ebendas. **21**. 3461. (1888.)
[3]) E. Schulze u. Winterstein, Ber. d. d. chem. Ges. **32**. 3191. (1899.)
Zeitschr. f. physiol. Chem. **34**. 128. (1901—1902.)
[4]) Ber. d. d. chem. Ges. **34**. 454. (1901.)
[5]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **34**. 525. (1902.) [6]) Ebendas. **29**. 334. (1900.)
[7]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **11**. 43. (1887.)



keimlingen entdeckt, entsteht es auch bei der hydrolytischen Spaltung von Eiweissstoffen, Horn, Leim (Hedin[1]), Elastin[2]), Histon[3]), Protaminen[4]), bei der tryptischen Spaltung von Eiweiss[5]) und Protaminen[6]). Gulewitsch[7]) fand es in der Rindermilz. Ferner ist sein Vorkommen in verschiedenen anderen Keimpflanzen, Knollen und Wurzeln[8]) und in Rübensäften[9]) festgestellt. In allen diesen Fällen handelt es sich um die active Form, nur Kutscher[10]) erhielt aus der Trypsinverdauung des Fibrins neben dem activen ein inactives Arginin.

Darstellung.

Synthetisch wurde es von E. Schulze und Winterstein[11]) hergestellt durch Verdunsten einer mit Cyanamid und einigen Tropfen Barytwasser versetzten Ornithinlösung über Schwefelsäure. Dieses mit Hülfe von activem Ornithin gewonnene Arginin ist optisch activ. Ueber die Darstellung des activen Arginins aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteïnkörper siehe § 167. Erhitzt man das durch Erwärmen auf 80° vom Krystallwasser befreite Nitrat 15 bis 20 Minuten auf 210—220°, so erhält man das Nitrat des inactiven, auch beim Erhitzen mit conc. Schwefelsäure bis zum beginnenden Sieden geht das active in das inactive Arginin über (Kutscher).

Eigenschaften des Arginins u. seiner Salze.

Das active Arginin krystallisirt in rosettenartigen Drusen von rechtwinkligen oder zugespitzten Tafeln und dünnen Prismen, reagirt stark alkalisch, zieht an der Luft Kohlensäure an und zersetzt sich bei 207 bis 207,5°. Es ist in Wasser leicht löslich, in Alkohol fast unlöslich. Beim Kochen mit conc. Salzsäure wird es nicht zersetzt. Das Nitrat $C_6H_{14}N_4O_2 . HNO_3 + \frac{1}{2} H_2O$ krystallisirt in feinen Nadeln, löst sich in 2 Th. Wasser bei 16° und beginnt, vorher längere Zeit bei 85° getrocknet, bei 175° zu schmelzen. (Das Nitrat des inactiven Arginins krystallisirt in kleinen, glänzenden, vierseitigen Säulen oder Tafeln, löst sich in 17 Th. Wasser bei 20° und schmilzt bei 211° unter Zersetzung). Die wässerige Lösung des Nitrats wird gefällt durch Phosphorwolframsäure, Phosphor-

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **20**. 186. (1895.) u. **21**. 155. (1895—1896.)

2) Kossel u. Kutscher, Ebendas. **25**. 551. (1898.)

3) Lawrow, Ebendas. **28**. 388. (1899.)

4) Kossel, Ebendas. **22**. 176. (1896—1897.), **25**. 165. (1898.), **26**. 591. (1898—1899.)

5) Kutscher, Ebendas. **25**. 195. (1898.)

6) Kossel u. Mathews, Ebendas. **25**. 190. (1898.)

7) Gulewitsch u. Jochelsohn, Ebendas. **30**. 533. (1900.)

8) E. Schulze, Ebendas. **22**. 435. (1896—1897.), **24**. 48. (1898.) Ber. d. d. chem. Ges. **29**. 352. (1896.)

9) v. Lippmann, Ber. d. d. chem. Ges. **29**. 2645. (1896.)

10) Sitzber. d. Ges. z. Befördg. d. ges. Naturw. zu Marburg. 1899. No. 6. Zeitschr. f. physiol. Chem. **28**. 90. (1899.) u. **32**. 476. (1901.)

11) Ber. d. d. chem. Ges. **32**. 3191. (1899.) Zeitschr. f. physiol. Chem. **34**. 128. (1902.)

molybdänsäure, Nessler's Reagens, nicht durch Bleiessig oder Gerbsäure. Durch Silbernitrat wird sie nicht gefällt, fügt man aber Natronlauge oder Barytwasser hinzu, so entsteht ein weisser Niederschlag $C_6H_{12}Ag_2N_4O_2 . H_2O$. Zusatz von Ammoniak hat keine Abscheidung zur Folge (Unterschied von Histidin). Desgleichen ruft Mercurinitrat keinen Niederschlag hervor, wohl aber Mercurinitrat und Natronlauge. Die Nitratlösung löst in der Wärme Kupferoxydhydrat, beim Erkalten scheiden sich blaue Prismen $2C_6H_{14}N_4O_2 . Cu(NO_3)_2 + 3 H_2O$ (Sm.-P. 112—114°) ab. Diese Verbindung ist zur Isolirung und Reinigung des Arginins sehr geeignet. Das salzsaure Salz $C_6H_{14}N_4O_2 . HCl$ krystallisirt ohne Krystallwasser in tafelförmigen Krystallen oder auch mit 1 Mol. H_2O. Die wässerige Lösung löst in der Wärme Kupferoxydhydrat. Das Sulfat krystallisirt nicht, das Pikrat in langen, gelben Nadeln, die in heissem Wasser ziemlich leicht löslich sind. Mit Silbernitrat bildet Arginin zwei Salze: $C_6H_{14}N_4O_2 . HNO_3 + AgNO_3$ Nadeln, in Wasser leicht löslich (13,75 Th. in 100 Th. Wasser bei 16°) und $C_6H_{14}N_4O_2 . AgNO_3 + 1/2 H_2O$ Prismen, in Wasser ziemlich schwer löslich (1,13 Th. in 100 Th. Wasser von 16°). Zum Umkrystallisiren ist das saure Salz besser geeignet, da das basische leicht reducirt wird. Ueber weitere Verbindungen siehe bei E. Schulze und Steiger, Hedin, Gulewitsch[1]). Beim Schütteln mit Benzoylchlorid und Natronlauge entsteht Dibenzoylarginin, in verdünnter Natronlauge leicht löslich, aus kochendem Wasser sich in Nädelchen (Sm.-P. 217—218°) abscheidend (Gulewitsch, Lawrow[2]). Benzoylverbindung.

Das salzsaure Salz zeigt in 9—10 proc. Lösung $[\alpha]_D = 10,70°$ (Gulewitsch[3]). Aehnliche Werthe fanden auch E. Schulze und Steiger[4]). Bei Anwesenheit von 7 Mol. oder mehr freier Salzsäure beträgt $[\alpha]_D = + 21,25°$. Das salpetersaure Salz zeigt in 10 proc. Lösung $[\alpha]_D = + 9,31°$. Optische Eigenschaften.

Beim Erhitzen von Arginin mit Barytwasser entsteht Harnstoff und Ornithin (E. Schulze[5]), bei der Oxydation mit Bariumpermanganat Guanidinbuttersäure, Guanidin und Bernsteinsäure (Bénech und Kutscher[6]). Zersetzungen.

Dem Nachweis muss die Isolirung, welche nach § 167 geschieht, vorangehen. Zur Identifizirung eignen sich am besten das Nitrat und das Kupfernitrat. Nachweis.

164. **Lysin (α, ε-Diaminocapronsäure) $C_6H_{14}N_2O_2$.** Dieser von Drechsel[7]) als Spaltungsproduct des Caseïns entdeckte Körper entsteht bei der Säure- Vorkommen.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **27**. 178. (1899.) [2]) Ebendas. **28**. 585. (1899.)
[3]) a.a.O. und Ebendas. **27**. 368. (1899.)
[4]) a.a.O. und Ebendas. **29**. 329. (1900.)
[5]) E. Schulze u. Likiernik, Ber. d. d. chem. Ges. **24**. 2701. (1891.)
E. Schulze u. Winterstein, Zeitschr. f. physiol. Chem. **26**. 1. (1898—1899.)
[6]) Ebendas. **32**. 278 u. 413. (1901.)
[7]) Arch. f. Physiol. 1891. S. 248. Ber. d. d. chem. Ges. **25**. 2454. (1892.)

$CH_2(NH_2)$ | $(CH_2)_3$ | $CH(NH_2)$ | COOH

spaltung von thierischen und pflanzlichen Eiweissstoffen, Leim, Horn[1]), Spongin[2]), Histon[3]), Sturin, ebenso bei der tryptischen Verdauung von Eiweiss[1]), Sturin[4]). Es findet sich in den Keimpflanzen von Lupinus luteus (E. Schulze[5]). In allen diesen Fällen handelt es sich um optisch actives Lysin. Durch Erhitzen mit Barytwasser auf 150° geht es in die inactive Modification über (Siegfried[6]).

Darstellung.

Synthetisch gewannen E. Fischer u. Weigert[7]) i-Lysin. Ueber die Darstellung aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteïnkörper siehe § 167.

Eigenschaften des Lysins und seiner Salze.

Das Lysin krystallisirt nicht und zersetzt sich leicht. Saure Lösungen werden durch Mercurinitrat nicht gefällt, wohl aber durch Mercurinitrat und Natronlauge (Hedin[8]); durch Silbernitrat und Barytwasser werden die wässerigen Lösungen seiner Salze nicht gefällt (Unterschied von Arginin und Histidin), ebenfalls nicht durch Bleiessig und Gerbsäure, durch Phosphorwolframsäure werden sie gefällt. Das salzsaure Salz $C_6H_{14}N_2O_2 . 2 HCl$ schmilzt bei 192—193°, verliert beim Umkrystallisiren aus nicht Salzsäure haltigen Lösungsmitteln leicht 1 Mol. Salzsäure, ist in kaltem absol. Alkohol fast unlöslich. Das Platindoppelsalz krystallisirt aus alkohol. Lösung in schönen, gelbrothen Prismen mit 1 Mol. Krystallalkohol $C_6H_{14}N_2O_2 . 2 HCl . PtCl_4 + C_2H_6O$. Das in Wasser ziemlich schwer lösliche Pikrat $C_6H_{14}N_2O_2 . C_6H_2(NO_2)_3OH$ scheidet sich auf Zusatz von Natriumpikrat zu einer nicht zu verdünnten Lösung des salzsauren Salzes oder von alkoholischer Pikrinsäure (unter Vermeidung eines Ueberschusses) zu einer conc. wässrigen Lösung der freien Base ab (Kossel[9]). Das kohlensaure Salz $2C_6H_{14}N_2O_2 . CO_2$ krystallisirt. Lysin bildet 2 Silbersalze, die den Argininsalzen entsprechen, ein in Wasser ziemlich schwer lösliches $C_6H_{14}N_2O_2 . AgNO_3$ von alkalischer Reaction und ein in Wasser leicht lösliches, durch Alkohol abscheidbares, in Nadeln krystallisirendes von saurer Reaction $C_6H_{14}N_2O_2 . HNO_3 + AgNO_3$ (Hedin).

Phenylisocyanatverbindung.

Das Hydantoïn der Phenylisocyanatverbindung des Lysins $C_{20}H_{22}N_4O_3$ (Sm.-P. 183—184°) entsteht unter denselben Bedingungen wie die entsprechende Ornithinverbindung (Herzog[10]).

Benzoylverbindung.

Beim Schütteln von Lysin in alkalischer Lösung mit Benzoylchlorid im Ueberschuss entsteht Dibenzoyllysin (Lysursäure), dessen schwer lösliches saures Barytsalz zur Isolirung dienen kann (Drechsel[11]). Die Lysursäure

---

1) Hedin, Lund's Univers. Arsskrift. T. 29.
2) Kutscher, Zeitschr. f. physiol. Chem. **29**. 320. (1900.)
3) Lawrow, Ebendas. **28**. 388. (1899).
4) Kossel u. Mathews, Zeitschr. f. physiol. Chem. **25**. 190. (1898.)
5) Ebendas. **28**. 465. (1899.) 6) Ber. d. d. chem. Ges. **24**. 418. Lawrow, a. a. O.
7) Sitzber. d. k. pr. Ak. d. Wiss. Berlin 1902. XIII. S. 270.
8) Zeitschr. f. physiol. Chem. **21**. 297. (1895—1896.)
9) Ebendas. **26**. 586. (1898—1899.) 10) Ebendas. **34**. 525. (1901—1902.)
11) Ber. d. d. chem. Ges. **28**. 3189 (1895) und bei Gamgee, Physiol. Chemie der Verdauung, deutsche Ausgabe und Neubearbeitung von Asher u. Beyer, Deudicke 1897. S. 267, siehe auch Lawrow, Zeitschr. f. physiol. Chem. **28**. 585. (1899.)

löst sich nur sehr wenig in kaltem Wasser, Petrolaether und bei Abwesenheit von Salzsäure auch in Aether, in Alkohol dagegen leicht. Sie fällt zunächst ölig aus, krystallisirt erst allmählich in Blättchen, sie krytallisirt schneller, wenn die kalte alkoholische Lösung sehr allmählich mit Wasser versetzt wird, Sm.-P. 144—145°. Durch Erhitzen mit einem Gemisch gleicher Theile conc. Salzsäure und Alkohol auf 120—140° zerfällt sie in Lysin und Benzoësäure. Ueber weitere Salze der Lysursäure siehe bei Willdenow[1]).

Das salzsaure Lysin ist rechtsdrehend u. z. beträgt für 2—5 proc. Lösung $[\alpha]_D = +14 - 15{,}3^0$ (Henderson[2]). Optische Eigenschaften.

Durch Bacterienwirkung besonders bei Abwesenheit von Sauerstoff entsteht aus dem Lysin Pentamethylendiamin (Ellinger[3]). Zersetzung.

Dem Nachweis muss die Isolirung, welche nach § 167 geschieht, vorangehen. Zur Identificirung eignet sich am Besten das Pikrat. Aus demselben lässt sich durch Schütteln seiner salzsauren Lösung mit Aether und Verdampfen der wässerigen Lösung das Chlorid gewinnen. Um es zu reinigen, löst man es in heissem Methylalkohol, verdunstet zum Syrup und versetzt den Rückstand mit wenig heissem absol. Alkohol. Beim Erkalten krystallisirt das Chlorid. Nachweis.

Lysatin $C_6H_{13}N_3O_2$, Lysatinin $C_6H_{11}N_3O$. Diese Basen wurden von Drechsel[4]) und seinen Mitarbeitern neben dem Lysin unter den hydrolytischen Zersetzungsproducten von Eiweiss und Leim aufgefunden und als in schönen, silberglänzenden, weissen, langen Nadeln krystallisirende Silberdoppelsalze erhalten. Nach Hedin[5]) lag höchstwahrscheinlich ein Gemenge der entsprechenden Lysin- und Argininsalze vor.

---

165. **Histidin** $C_6H_9N_3O_2$. Diese von Kossel[6]) unter den Spaltungsproducten des Sturins entdeckte Base noch unbekannter Constitution tritt auch bei der durch Säuren bewirkten Spaltung von thierischen und pflanzlichen Eiweissstoffen[7]), von Hornsubstanz[7]), Leim[8]), Seide[9]), Histon[10]) auf und bildet sich bei der tryptischen Verdauung von Eiweiss[8]) und Sturin[11]). Sie ist auch in den Keimpflanzen von Lupinus luteus enthalten (E. Schulze[12]). Vorkommen.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **25**. 523. (1898.)
[2]) Ebendas. **29**. 320. (1900). Lawrow, Ebendas. **28**. 388. (1899.)
[3]) Ebendas. **29**. 334. (1900).
[4]) Ber. d. d. chem. Ges. **23**. 3096. (1890.) Arch. f. Physiol. 1891. S. 248.
[5]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **21**. 297. (1895—1896.)
[6]) Ebendas. **22**. 176. (1896—1897.)
[7]) Hedin, Ebendas. **22**. 191. (1896—1897.)
E. Schulze u. Winterstein, Ebendas. **28**. 459. (1899.)
[8]) Kutscher, Ebendas. **25**. 199. (1898.)
[9]) Wetzel, Ebendas. **26**. 535. (1898—1899.)
[10]) Lawrow, Ebendas. **28**. 388. (1899.)
[11]) Kossel u. Mathews, Ebendas. **25**. 190. (1898.)
[12]) Ebendas. **28**. 465. (1899.)

Das erhaltene Histidin ist optisch activ, nur bei der Spaltung der Eiweissstoffe mit Jodwasserstoff bei Gegenwart von phosphoriger Säure wurde ein Histidin gewonnen, dessen salzsaures Salz optisch inactiv war (Kossel und Kutscher[1]).

Darstellung. Ueber ihre Darstellung aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteïnkörper siehe § 167.

Eigenschaften des Histidins u. seiner Salze. Das Histidin erscheint in blättrigen, nadel- oder tafelförmigen Krystallen von alkalischer Reaction, die in Wasser sehr leicht, in Alkohol sehr wenig, in Aether unlöslich sind. Seine Lösungen werden durch Phosphorwolframsäure gefällt. Versetzt man die Lösung der freien Base oder des Nitrates mit Silbernitrat und vorsichtig mit Ammoniak, so entsteht ein amorpher Niederschlag, der ausgewaschen und bei 100° getrocknet die Zusammensetzung $C_6H_7Ag_2N_3O_2 . H_2O$ hat (Hedin). Ebenso wie Ammoniak wirkt Natronlauge oder Barytwasser. Die Lösungen seiner Salze werden durch Phosphorwolframsäure gefällt, aber nicht durch Bleiessig oder Gerbsäure. Das kohlensaure Salz wird bei Abwesenheit von neutralen Alkalisalzen noch in sehr verdünnter Lösung durch Sublimat gefällt. Das salzsaure Salz $C_6H_9N_3O_2 . HCl + H_2O$ bildet in Wasser ziemlich leicht lösliche, in Alkohol und Aether unlösliche, glashelle, rhombische Tafeln (Bauer[2]). Löst man das salzsaure Salz in wenig heisser, concentrirter Salzsäure, fällt mit Alkohol-Aether, wiederholt dieses Verfahren mehrmals und löst dann in verdünnter Salzsäure, so scheidet sich bei langsamem Verdunsten $C_6H_9N_3O_2 . 2\,HCl$ in grossen, glashellen Tafeln, die bei 231—233° unter Zersetzung schmelzen, ab (Kutscher[3]). Gut krystallisirendes Nitrat $C_6H_9N_3O_2 . 2\,HNO_3$ und gut krystallisirende Platin- und Silbernitratdoppelsalze (Kossel[4]).

Optische Eigenschaften. Die freie Base dreht links u. z. $[\alpha]_D = -39{,}74°$, die salzsaure Lösung dreht rechts u. z. beträgt:

bei 1 Mol. Base auf 1 Mol. HCl $[\alpha]_D = +1{,}74°$
" " " " " 2 " " $[\alpha]_D = +5{,}32°$
" " " " " 4 " " $[\alpha]_D = +6{,}46°$ (Kossel).

Nachweis. Dem Nachweis muss die Isolirung vorangehen. Dieselbe geschieht in der § 167 angegebenen Weise. Zur Identificirung eignet sich wohl am Besten das salzsaure Salz, ausserdem die Silberverbindung.

Vorkommen. 166. **Carnosin** $C_9H_{14}N_4O_3$. Diese ihrer Constitution nach noch unbekannte Base wurde von Gulewitsch und Amiradzibi[5]) aus Fleischextract in folgender Weise gewonnen: Die wässrige mit Schwefelsäure angesäuerte Lösung wird mit Phosphorwolframsäure gefällt, der Niederschlag mit Barythydrat zersetzt, das durch Kohlensäure vom überschüssigen Baryt

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **31**. 179. (1901.)
2) Ebendas. **22**. 182 u. 285. (1896—1897.)
3) Ebendas. **28**. 383. (1899.), siehe auch ebendas. **29**. 492. (1900.)
4) Ebendas. **28**. 382. (1899.)
5) Ebendas. **30**. 565. (1900.)

befreite Filtrat nach entsprechender Concentration mit Salpetersäure neutralisirt und mit Silbernitrat versetzt, der entstandene Niederschlag abfiltrirt, das Filtrat mit der nöthigen Menge Silbernitrat und überschüssigem Barythydrat ausgefällt, der Niederschlag ausgewaschen und durch Schwefelwasserstoff zerlegt. Die alkalische Flüssigkeit wird mit Kohlensäure gesättigt, eingedampft, filtrirt, mit Salpetersäure neutralisirt und weiter eingeengt. Sodann wird die sich ausscheidende Krystallmasse abgesaugt, in heissem Wasser gelöst und mit Alkohol bis zur Trübung versetzt: es scheiden sich allmählich zu Drusen vereinigte farblose Nadeln von Carnosinnitrat ab.

Die freie Base, aus dem Nitrat durch Fällen mit Phosphorwolframsäure gewonnen, krystallisirt in flachen Nädelchen, die in Wasser leicht löslich sind mit stark alkalischer Reaction und bei 239° unter Zersetzung schmelzen. Das Nitrat $C_9H_{14}N_4O_3 . HNO_3$ dreht rechts ($[\alpha]_D = +22{,}3°$), Carnosinsilber $C_9H_{12}Ag_2N_4O_3 . H_2O$ gallertartig, in trocknem Zustande weisse, leicht pulverisirbare Masse, in kaltem Wasser sehr schwer, in heissem etwas leichter löslich. Carnosinkupfer tiefblaue, meist als sechsseitige Tafeln erscheinende Krystalle, in kaltem und heissem Wasser schwer löslich. Das saure Silbernitrat krystallisirt, in Wasser leicht löslich. Die Verbindungen zeigen eine auffallende Analogie mit denen des Arginins. Eigenschaften.

Einen Körper von der Zusammensetzung $C_3H_8N_2O$, der in kaltem Wasser oder Alkohol schwer, in heissem Wasser leicht löslich, in absolutem Alkohol oder Aether unlöslich ist, in weissen, der Hippursäure ähnlichen Formen krystallisirt, bei 250° schmilzt, mit Säuren leicht lösliche Salze liefert und mit salpetriger Säure behandelt eine Milchsäure giebt, deren Zinksalz 12,6 pCt. Krystallwasser enthält, hat Baumstark[1]) in ganz vereinzelten Fällen im Hunde- und Menschenharn gefunden. Verb. $C_3H_8N_2O$ aus Harn.

Darstellung der Hexonbasen*) (Arginin, Lysin und Histidin) aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteïnkörper nach Kossel und Kutscher[2]).

167. 2 bis 5 g Protamin bezw. 25 bis 50 g anderer Proteïnkörper**) (je nach dem Basenreichthum des benutzten Materials) werden mit einer Mischung von dem dreifachen Gewicht conc. Schwefelsäure und dem sechsfachen Gewicht Wasser 14 Stunden am Rückflusskühler gekocht. Die Flüssigkeit wird mit einer heissen, conc. Barytlösung alkalisch gemacht, filtrirt, mit Schwefelsäure angesäuert, wieder filtrirt und in einem 5-Liter-Kolben auf etwa

---

*) Unter diesem Namen fasst Kossel Arginin, Lysin und Histidin zusammen. Zeitschr. f. physiol. Chem. **25**. 175. (1898.)

**) Es sind das die Mengen, welche Kossel und Kutscher für die quantitative Bestimmung der Hexonbasen benutzten. Der oben beschriebene Gang lässt sich leicht quantitativ gestalten, siehe darüber die Originalarbeit. Die Ausbeuten sind natürlich nur geringe. Zur Gewinnung grösserer Mengen Hexonbasen ist mehr basenreiches Ausgangsmaterial zu verwenden.

[1]) Ann. Chem. Pharm. **173**. 342. (1874.)

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **31**. 165. (1900—1901.) u. persönliche Mittheilung von Herrn A. Kossel.

3 Liter aufgefüllt. Man erhitzt auf dem Wasserbade und fügt unter häufigem Umschütteln und weiterem Erwärmen solange fein gepulvertes Silbersulfat*) hinzu, bis ein Tropfen der Flüssigkeit in einem mit Barytwasser gefüllten und auf dunkler Unterlage stehenden Uhrglas nicht mehr eine weisse, sondern eine gelbe Fällung giebt. Zeigt sich während dessen Silbersulfat in ungelöstem Zustande am Boden des Gefässes, so bringe man es durch Zufügen von Wasser in Lösung und wiederhole die Prüfung, ehe man weiteres Silbersulfat zufügt. Sobald der gelbe Niederschlag im Uhrglas auftritt, lässt man die Flüssigkeit auf etwa 40° erkalten, sättigt sie mit gepulvertem Aetzbaryt, saugt den entstandenen Niederschlag sogleich ab, reibt ihn mit Barytwasser an, saugt die Flüssigkeit wieder ab und wäscht mit barythaltigem Wasser sorgfältig aus. Der Niederschlag (A) enthält Histidin und Arginin, die Flüssigkeit (B) Lysin.

A. Der Niederschlag (Histidin und Arginin) wird in schwefelsäurehaltigem Wasser aufgeschwemmt und mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Die filtrirte Flüssigkeit wird zur Vertreibung des Schwefelwasserstoffs eingedampft, wieder mit Wasser auf etwa 1 Liter aufgefüllt, mit Barytwasser neutralisirt und mit Bariumnitratlösung versetzt, so lange noch die Entstehung eines Niederschlags zu beobachten ist. Das auf etwa 300 ccm eingedampfte Filtrat versetzt man mit Silbernitratlösung bis eine Tropfenprobe in der oben beschriebenen Weise geprüft mit Barytwasser eine Gelbfärbung giebt. Zu der mit Barytwasser nochmals genau neutralisirten Flüssigkeit fügt man nun aus einer Bürette kleine Mengen Barytwasser, bis das Histidinsilber völlig ausgefällt ist. Man prüft zu dem Zweck die Lösung nach dem Zusatz einer kleinen Menge Barytwasser auf Histidin, indem man nach Absetzen des Niederschlags von der klaren Flüssigkeit mit Hülfe einer Glasröhre eine kleine Probe zur Prüfung mit ammoniakalischer Silberlösung entnimmt. Entsteht beim Zusammenfliessen beider Flüssigkeiten ein im Ueberschuss des Ammoniaks leicht löslicher Niederschlag, so ist noch Histidin vorhanden und man fügt weiterhin eine kleine Menge Barytwasser hinzu. Sobald die Ausfällung des Histidins beendet ist, filtrirt man den Niederschlag ab, nimmt ihn vom Filter, reibt ihn mit Wasser an und wäscht ihn sorgfältig aus. Der Niederschlag enthält Histidin (a), das Filtrat Arginin (b).

a) Der Niederschlag (Histidin) wird mit schwefelsäurehaltigem Wasser angerieben, das Silber durch Schwefelwasserstoff, die Schwefelsäure durch Barytwasser und der überschüssige Baryt durch Kohlensäure entfernt, dann die Flüssigkeit bis zur Trockne eingedampft und der Rückstand mit 10 bis

*) Wenn man auf die Darstellung der Monaminosäuren aus dem Filtrat vom Phosphorwolframsäure-Niederschlag (siehe B) verzichtet, so kann man die Darstellung der Hexonbasen vereinfachen, indem man statt des Silbersulfats Silbernitrat anwendet. In diesem Falle ist die Flüssigkeitsmenge eine geringere, da die Verdünnung auf 3 Liter nicht nöthig ist, auch ist die Erwärmung auf dem Wasserbade unnöthig.

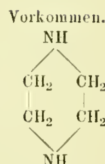
20 proc. Silbernitratlösung, der ein Tropfen verdünnter Salpetersäure zugefügt ist, aufgenommen. Hierbei bleibt eine geringe Menge organischer Substanz zurück. Das Filtrat wird vorsichtig mit verdünnter ammoniakalischer Silberlösung ausgefällt; der Niederschlag (Histidinsilber) abfiltrirt und durch Salzsäure zerlegt. Beim Eindampfen krystallisirt Histidindichlorid aus, oft sehr langsam.

b) Das Arginin enthaltende Filtrat wird mit gepulvertem Aetzbaryt gesättigt, der abgesaugte Niederschlag mit schwefelsäurehaltigem Wasser angerieben, mit Schwefelwasserstoff zerlegt, das Filtrat durch Baryt von der Schwefelsäure, durch Kohlensäure von überschüssigem Baryt befreit und eingedampft. Basisches Argininearbonat krystallisirt aus, aus dem man leicht andere Salze des Arginins darstellen kann.

B. Die Flüssigkeit (Lysin) wird mit Schwefelsäure angesäuert, durch Schwefelwasserstoff vom Silber befreit, filtrirt, auf etwa 500 ccm eingedampft, mit Schwefelsäure bis zu einem Gehalt von 5 pCt. versetzt und mit Phosphorwolframsäure ausgefällt. Der abgesaugte Niederschlag wird mit 5 proc. Schwefelsäure angerieben, wieder abgesaugt und ausgewaschen, dann mit Barytwasser zerlegt, das Filtrat durch Kohlensäure vom Baryt befreit, bis fast zur Trockne eingedampft, mit Wasser aufgenommen, filtrirt und nochmals eingedampft. Den Rückstand rührt man jetzt mit einer geringen Menge alkoholischer Pikrinsäure unter Zusatz von Alkohol an und fügt so lange kleine Portionen alkoholischer Pikrinsäure zu, als noch weiterer Niederschlag eintritt. Ein Ueberschuss von alkoholischer Pikrinsäure muss vermieden werden, da dieser das Lysinpikrat wieder in Lösung bringt. Nach mehrstündigem Stehen wird abfiltrirt, mit wenig absolutem Alkohol gewaschen, in siedendem Wasser gelöst und die Lösung eingedampft. Es krystallisirt Lysinpikrat aus.

Diamine, Neuridin.

168. **Spermin (Piperazin, Diaethylendiamin)** $C_4H_{10}N_2$. Aus Sperminphosphat bestehen nach Schreiner[1]) die in eingetrocknetem Sperma und auf alten anatomischen Spirituspräparaten auftretenden Krystalle (Böttcher-sche Krystalle). Auch eine aus Reinculturen von Choleravibrionen erhaltene Base (§ 172, 1) scheint mit Spermin identisch zu sein. Vorkommen.



Synthetisch ist Spermin von Ladenburg und Abel[2]) durch Erhitzen von salzsaurem Aethylendiamin erhalten worden. Auch nach anderen Verfahren ist die Synthese ausgeführt (v. Hofmann[3]), Majert[4]) u. A.) Darstellung.

Wird das natürliche Phosphat, welches bei 100⁰ getrocknet 35,1 bis 35,4 pCt. P_2O_5 enthält, mit der berechneten Menge Barytwasser versetzt

---

[1]) Ann. Chem. Pharm. **194**. 68. (1878.)
[2]) Ber. d. d. chem. Ges. **21**. 758. (1888.) **23**. 326 u. 3740. (1890.) **24**. 2400. (1891.)
[3]) Ebendas. **23**. 3297. (1890.) [4]) Ebendas. **23**. 3718. (1890.)

und das Filtrat verdunstet, so bleibt eine amorphe Masse zurück, die sich meist bald in wawellitartige Krystalle verwandelt.

Eigenschaften. Spermin ist in Wasser und Alkohol leicht löslich, reagirt alkalisch, zieht aus der Luft Kohlensäure an und giebt beim Erhitzen auf dem Platinblech schwachen Ammoniakgeruch und dicke, weisse Nebel. Die Lösungen werden gefällt durch Chlorzink, Gerbsäure, Silbernitrat, Sublimat, Goldchlorid, Platinchlorid, Phosphorwolframsäure und Phosphormolybdaensäure. Kaliumwismuthjodid giebt scharlachrothen, nach einiger Zeit ins Gelbe spielenden krystallinischen Niederschlag. Auf Zusatz von Phosphorsäure entstehen sogleich wieder die ursprünglichen Krystalle, welche 21,2 pCt. bei 100° entweichendes Krystallwasser enthalten und in Alkohol, Aether, Chloroform, Kochsalzlösung unlöslich, in kaltem Wasser schwer, in heissem leichter löslich, in verdünnten Säuren, in Alkalien und kohlensauren Alkalien sowie in Ammoniak leicht löslich sind. Das salzsaure Salz bildet in Wasser leicht, in Alkohol schwer lösliche, büschelförmig vereinigte, anscheinend sechsseitige Prismen, das Platindoppelsalz ziemlich grosse Prismen, das Golddoppelsalz perlmutterglänzende, goldgelbe Nadeln.

Benzoylverbindung. Beim Schütteln mit Benzoylchlorid und Natronlauge entsteht die Dibenzoylverbindung $C_4H_8N_2 \cdot 2\,C_6H_5CO$ als in Wasser nicht löslicher Niederschlag, der sich beim Umkrystallisiren aus heissem Alkohol in schönen rhombischen Krystallen (Sm.-P. 191°) abscheidet.

Charcot'sche Krystalle. Die sog. Charcot'schen Krystalle, die besonders in Sputis vielfach zur Beobachtung kommen, unterscheiden sich von den Böttcher'schen durch ihre Krystallformen und auch dadurch, dass sie durch Jodjodkali nicht gefärbt werden, während die Böttcher'schen dunkelblauschwarz werden (Th. Cohn[1]), B. Lewy[2]). Eine chemische Untersuchung der Charcot-schen Krystalle scheint nicht vorzuliegen.

Vorkommen. $CH_2(NH_2)$ | $(CH_2)_2$ | $CH_2(NH_2)$

169. **Putrescin (Tetramethylendiamin)** $C_4H_{12}N_2$ ist von Brieger[3]) als Fäulnissproduct zuerst aufgefunden. Ellinger[4]) beobachtete seine Bildung bei der bacteriellen Zersetzung des Ornithins. Von Baumann und v. Udránszky[5]) wurde es aus Harn und Fäces bei Cystinurie neben Cadaverin und von Roos[6]) aus den Fäces eines Diarrhöekranken erhalten.

Darstellung: Synthetisch gewinnt man es aus Aethylencyanid[7]) oder Pyrrolhydroxylamin[8]) durch Reduction mit Natrium.

nach v. Udránszky u. Baumann. Zur Darstellung von Putrescin und Cadaverin (§ 170) aus Harn, Fäces,

---

[1]) Deutsch. Arch. f. klin. Med. **54.** 515. (1895.)

[2]) Klin. exp. Beitr. zur inn. Med. (Lazarus-Festschrift) Hirschwald 1899.

[3]) Untersuchungen über Ptomaïne. I, II, III (1885—1886.)

[4]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **29.** 334. (1900.)

[5]) Ber. d. d. chem. Ges. **21.** 2744 u. 2938. (1888.) Zeitschr. f. physiol. Chem. **13.** 562. (1889.)

[6]) Ebendas. **16.** 192. (1892.)

[7]) Ber. d. d. chem. Ges. **19.** 780. (1886.) [8]) Ebendas. **22.** 1968. (1889.)

faulenden Substanzen dient folgendes Verfahren von v. Udránszky und Baumann. 1500 ccm Harn werden mit 200 ccm 10 proc. Natronlauge und 20—25 ccm Benzoylchlorid bis zum Verschwinden des Geruchs nach Benzoylchlorid geschüttelt. Fäces und faulende Massen digerirt man zunächst mit schwefelsäurehaltigem Alkohol, verdunstet den Auszug, löst den Rückstand in Wasser und benzoylirt die filtrirte Lösung in der eben angegebenen Weise. Der grösste Theil der gebildeten Benzoylverbindungen scheidet sich ab (a), ein kleiner Theil bleibt in Lösung (b). Der abfiltrirte Niederschlag (a) wird mit Alkohol behandelt, der eingeengte alkoholische Auszug in die etwa 30 fache Menge Wasser gegossen, die sich allmählich abscheidende Krystallisation abfiltrirt, mit Wasser gewaschen und wieder in Alkohol gelöst. Aus der mit Wasser verdünnten Lösung scheiden sich die Benzoylverbindungen ab. Die abfiltrirte Flüssigkeit (b) wird mit Schwefelsäure stark angesäuert und mit Aether mehrfach ausgeschüttelt, der Rückstand des Aetherauszugs alsbald mit überschüssiger Natronlauge versetzt und zur Krystallisation in die Kälte gestellt. Die ausgeschiedenen Krystalle werden mit kaltem Wasser gewaschen, in wenig warmem Alkohol gelöst, aus dieser Lösung durch viel Wasser abgeschieden und mit der Hauptmenge vereinigt. Das auf diese Weise erhaltene Gemenge der Benzoylverbindungen von Cadaverin und Putrescin löst man in einer zur Lösung gerade erforderlichen Quantität warmem Alkohol und giesst die Flüssigkeit in das 20 fache Vol. Aether: Die Putrescinverbindung krystallirt aus, die Cadaverinverbindung bleibt in Lösung. Ueber die Gewinnung des Putrescins und Cadaverins nach Brieger siehe § 174. nach Brieger.

Putrescin krystallisirt, schmilzt bei 24°, siedet bei 158—160°, ist mit Wasserdämpfen ziemlich schwer flüchtig, riecht nach Sperma und zieht Kohlensäure an. Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdaensäure, Kaliumquecksilberjodid, Kaliumwismuthjodid, Jodjodkalium geben mit dem salzsauren Putrescin Niederschläge, die mit Ausnahme der durch die ersten beiden Reagentien hervorgerufenen krystallinisch sind oder es bald werden. Das salzsaure Salz $C_4H_{12}N_2 . 2 HCl$ ist in Alkohol schwer löslich. Das Platindoppelsalz $C_4H_{12}N_2 . 2 HCl . PtCl_4$ ist in Wasser schwer löslich und krystallisirt aus der wässerigen Lösung in feinen Prismen. Das Goldchloriddoppelsalz $C_4H_{12}N_2 . 2 HCl . 2 AuCl_3 + 2 H_2O$ ist in Wasser nicht schwer löslich, das Pikrat krystallisirt in breiten, in Wasser schwer löslichen Nadeln. Eigenschaften.

Das Dibenzoylputrescin $C_4H_8(NH . C_6H_5CO)_2$, durch Schütteln mit Benzoylchlorid und Natronlauge erhalten, bildet langgestreckte Nadeln (Sm.-P. 175—176°), die in Wasser unlöslich, in Alkohol löslich sind und aus der alkoholischen Lösung durch überschüssigen Aether ausgeschieden werden (Unterschied von Dibenzoylcadaverin). Benzoylverbindung.

170. **Cadaverin (Pentamethylendiamin)** $C_5H_{14}N_2$ wurde von Brieger (a. a. O.) aus (unter bestimmten Verhältnissen) gefaultem Fleisch und aus Vorkommen.

$CH_2(NH_2)$
$(CH_2)_3$
$CH_2(NH_2)$

Culturen von Choleravibrionen erhalten. Es entsteht bei der bacteriellen Zersetzung des Lysins (Ellinger a. a. O.). Baumann und v. Udránszky[1]) entdeckten es in Harn und Fäces von Personen, die an Cystinurie litten. Roos (a. a. O.) fand es vorübergehend in den Faeces eines an Malaria und Dysenterie leidenden Mannes. Nach Werigo[2]) ist es im frischen Pancreas enthalten und Steyrer[3]) isolirte es aus aseptisch gehaltenem Pancreasverdauungsgemisch.

Darstellung. Synthetisch wurde es von Ladenburg[4]) beim Eintragen von Natrium in eine siedende, alkoholische Lösung von Trimethylencyanid erhalten. Ueber die Darstellung aus Harn, Fäces, gefaulten Massen siehe §§ 169 u. 174.

Eigenschaften. Cadaverin stellt einen Syrup dar, der nach Sperma riecht, an der Luft raucht und Kohlensäure unter Carbonatbildung aufnimmt. Es siedet bei 175—178°, ist mit Wasserdämpfen flüchtig und löst sich leicht in Wasser oder Alkohol, wenig in Aether. Mit Phosphormolybdaensäure geben seine Lösungen weissen, mit Kaliumwismuthjodid rothen krystallinischen Niederschlag, mit Jodjodkalium braune Krystallnadeln. Das salzsaure Salz $C_5H_{14}N_2 . 2HCl$ ist nach Gulewitsch[5]) entgegen früheren Angaben an der Luft nicht zerfliesslich. Das Quecksilberdoppelsalz $C_5H_{14}N_2 . 2\,HCl . 4\,HgCl_2$ krystallisirt in wechselnden Formen, löst sich in 32,5 Th. Wasser bei 21° und schmilzt bei 214°. Das Platindoppelsalz $C_5H_{14}N_2 . 2\,HCl . PtCl_4$ entsteht in der Lösung des salzsauren Salzes auf Zusatz von alkoholischer Platinchloridlösung als gelber Niederschlag; es ist in 70,8 Th. Wasser bei 21° löslich, krystallisirt aus Wasser in Prismen oder Nadeln und schmilzt bei etwa 215°. Krystallisirendes, in Wasser leicht lösliches Golddoppelsalz $C_5H_{14}N_2 . 2\,HCl . 2\,AuCl_3$ (Sm.-P. 186—188°). Das Pikrat $C_5H_{14}N_2 . 2\,C_6H_2(NO_2)_3OH$ ist in kaltem Wasser fast unlöslich, krystallisirt in dünnen Nadeln oder langgestreckten Tafeln und schmilzt bei 221° unter Zersetzung.

Benzoylverbindung. Die Dibenzoylverbindung $C_5H_{10}(NH . C_6H_5CO)_2$, welche beim Schütteln mit Benzoylchlorid und Natronlauge entsteht, ist unlöslich in Wasser, löslich in Alkohol, aber aus dieser Lösung durch Aether nicht fällbar und schmilzt bei 130°. Sie ist widerstandsfähig gegen starke Alkalien und Säuren und wird durch anhaltendes Kochen ihrer alkoholischen Lösung mit starker Salzsäure in Benzoësäure und salzsaures Cadaverin gespalten.

Zersetzung. Das salzsaure Salz zerfällt bei der trocknen Destillation in Ammoniak, Salzsäure und Piperidin $C_5H_{11}N$.

---

1) a. a. O. u. Brieger u. Stadthagen, Berl. klin. Wochenschr. 1889. S. 344.
2) Arch. f. d. ges. Physiol. **51**. 362. (1892.)
3) Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. **1**. 506. (1902.)
4) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. **16**. 1151. (1883.), **18**. 2957 u. 3100. (1885.) **19**. 780 u. 2586. (1886.), **20**. 2216. (1887.)
5) Zeitschr. f. physiol. Chem. **20**. 287. (1895.)

171. **Neuridin** $C_5H_{14}N_2$. Diese mit dem Pentamethylendiamin isomere Base ist von Brieger[1]) aus frischem menschlichen Gehirn und aus Hühnereiern in geringer Menge gewonnen, ferner in (fünf bis sechs Tage lang) gefaultem Fleisch, in gefaulten Fischen, Kuhkäse, Leim, Reinculturen von Typhusbacillen gefunden worden. Aus ganz frischem Gehirn konnte Gulewitsch[2]) sie nicht erhalten. Vorkommen.

Zu ihrer Darstellung fällt man den wässrigen Auszug mit Bleizucker, leitet durch das Filtrat Schwefelwasserstoff, filtrirt und säuert mit Schwefelsäure an. Nach Entfernung der flüchtigen Säuren durch Kochen und der Schwefelsäure durch Baryt wird die Base mit Sublimat gefällt und durch Zerlegung des Niederschlags mit Schwefelwasserstoff gewonnen. Vergl. auch § 174. Darstellung.

Die freie Base riecht unangenehm, ist gelatinös, sehr leicht löslich in Wasser, unlöslich in Alkohol und Aether. Sie giebt die Isonitrilreaction nicht. Das salzsaure Salz $C_5H_{14}N_2 \cdot 2\,HCl$ bildet in absol. Alkohol unlösliche Nadeln; seine wässerige Lösung giebt mit Phosphorwolframsäure amorphen, im Ueberschuss des Fällungsmittels löslichen, mit Phosphormolybdänsäure krystallinischen, mit Pikrinsäure einen langsam ausfallenden Niederschlag, der sich bald in schöne, gelbe Nadeln verwandelt, mit Kaliumwismuthjodid ein rothes, amorphes Präcipitat, mit Goldchlorid krystallinische Fällung. Eigenschaften.

Beim Kochen mit Natronlauge zerfällt Neuridin unter Bildung von Di- und Trimethylamin. Zersetzung.

Ptomaïne.

172. Unter der Bezeichnung „Ptomaïne" hat zuerst Selmi[3]) eine Anzahl basischer Substanzen zusammengefasst, welche in ihrem Verhalten den Pflanzenalkaloïden sich anschliessen, aus Cadavern gewonnen werden und leicht zu Verwechselungen mit Coniin, Morphin u. s. w. Veranlassung geben können. Brieger hat diesen Namen beibehalten, aber die Ptomaïne in der Weise abgegrenzt, dass unter ihnen basische Stoffe verstanden werden sollen, welche durch die Lebensprocesse der Mikroorganismen gebildet werden. Es gelang zugleich Brieger zuerst eine Anzahl solcher Basen in reinem Zustand krystallisirt und nach bestimmten Methoden zu gewinnen und ihre chemische Zusammensetzung und ihre Eigenschaften festzustellen. Zu denselben gehören nach dieser Definition von Brieger eine Anzahl der hier in den §§ 115, 141—145 und 168—171 beschriebenen Substanzen, nämlich Methylguanidin, Cholin, Neurin, Muscarin, Trimethylamin, Dimethylamin, Methylamin, Tri- und Diäthylamin, Propylamin, Butylamin u. s. w., Cadaverin, Putrescin (wahrscheinlich auch Spermin), Neuridin. Durch zahlreiche spätere Untersuchungen sind

---

[1]) Brieger, Untersuchungen über Ptomaïne. I. S. 20 u. ff. 1885.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **27**. 50. (1890.)

[3]) F. Selmi, Sulle ptomaine ed alcaloidi cadaverici e lore importanza in toxicologia. Bologna. 1878. Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. **11**. 808. (1878.)

ausserdem eine grosse Zahl basischer Körper durch verschiedene Forscher, hauptsächlich durch Brieger[1]) selbst bekannt geworden, deren chemische Structur und characteristische Eigenschaften aber noch in der Untersuchung sich befinden, oder derselben noch weiterhin bedürfen. Es sollen hier nur die besser bekannten aufgeführt und die Methoden geschildert werden, deren sich Brieger u. A. nach ihm zur Auffindung und Trennung dieser Stoffe bedient haben.

Ptomaïne mit 1 Atom N. 1. Base C_2H_5N aus einer Reincultur vom Koch'schen Kommabacillus auf Pancreassafteiweisslösung erhalten[2]). Platinchloriddoppelsalz in Wasser sehr schwer löslich. Wahrscheinlich identisch mit Spermin.

2. Tetanotoxin $C_5H_{11}N$, aus einer nicht ganz reinen Cultur von Tetanusbacillen auf Rindfleisch und auf Gehirnbrei von Brieger[3]) dargestellt, siedet bei 100° (jedoch nicht ganz wasserfrei erhalten). Das salzsaure Salz leicht löslich, schmilzt bei 205°, das Platinchloriddoppelsalz schwer löslich, zersetzt sich bei 240°, Goldchloriddoppelsalz leicht löslich, schmilzt bei 130°. Die Base giebt Isonitril- und Senfölreaction.

3. Base $C_7H_{11}N$, aus Leberthran von Gautier und Mourgues[4]) erhalten, farblose, ölige Flüssigkeit, wenig löslich in Wasser, siedet bei 199°. (Vielleicht Dihydrodimethylpyridin?) Gold- und Platinchloriddoppelsalz, salzsaure, salpetersaure und schwefelsaure Verbindung dargestellt.

4. Base $C_8H_{11}N$, bei der Fäulniss von Leim erhalten[5]), ölige Flüssigkeit, zieht Kohlensäure an der Luft an und erstarrt zu blättriger Masse, giebt schwerlösliches Platindoppelsalz. Sie ist identisch mit Phenylaethylamin (§ 200).

5. Base $C_8H_{11}N$, aus gefaulten Seepolypen[6]), gelbliche Flüssigkeit, sehr wenig löslich in Wasser, siedet gegen 204°, zerfliessliches salzsaures Salz, fast unlösliches Platindoppelsalz, es wird durch kochendes Wasser zersetzt. Goldchloriddoppelsalz, zwei Quecksilberdoppelsalze, Jodmethylverbindung. Diese Base liefert bei Behandlung mit Permanganat Nicotinsäure, welche beim Erhitzen mit überschüssigem Kalk Pyridin giebt.

6. Base $C_8H_{11}N$, aus durch Streptokokken zersetztem Fibrin gewonnen[7]), schwach pyridinartig riechender Syrup, in feinen, gelben Nadeln krystallisirendes Pikrat, leicht lösliches Platindoppelsalz.

7. Base $C_8H_{13}N$, aus gefaultem Pferde- oder Rindfleisch, Makrelen[8]). Farblose, ölige Flüssigkeit von Fliedergeruch, siedet gegen 210°, giebt leicht lösliches salzsaures Salz, wenig lösliches Platindoppelsalz, ziemlich lösliches, leicht zersetzliches Golddoppelsalz. Nach Gautier und Etard identisch mit Hydrocollidin.

8. Base $C_9H_{13}N$, aus gefaultem Pferdefleisch, gefaulten Makrelen, vielleicht Parvolin[8]). Oelige Flüssigkeit, leicht löslich in Wasser, Alkohol, Aether, siedet etwas unter 200°. Das Platindoppelsalz ist wenig löslich, Golddoppelsalz löslich.

---

1) Untersuchungen über Ptomaïne. Berlin 1885—1886.

2) Kunz, Monatsh. f. Chem. **9**. 372. (1888.)

3) Ber. d. d. chem. Ges. **19**. 3119. (1886.) Deutsche med. Wochschr. 1887. S. 304.

4) Compt. rend. **107**. 110 u. 254. (1888.)

5) Nencki, Ueber Zersetzung der Gelatine u. s. w. Bern 1876. Monatsh. f. Chem. **10**. 524. (1889.)

6) Oechsner de Coninck, Compt. rend. **106**. 160 u. 858. (1888.), **108**. 58 u. 809. (1889.) u. **126**. 651. (1898.)

7) Emmerling, Ber. d. d. chem. Ges. **30**. 1863. (1897.)

8) Gautier et Etard, Compt. rend. **94**. 1600. (1882.) u. **97**. 264. (1883.) Bullet. de l'acad. de méd. [2.] **15**. 80. (1886.)

9. Base $C_{10}H_{13}N$, aus faulem Ochsenfibrin erhalten[1]), flüssig, wenig löslich in Wasser, von leichtem Pyridingeruch, siedet bei 200°. Salzsaures Salz etwas zerfliesslich, unlösliches Platindoppelsalz, leicht zersetzliches Golddoppelsalz.

10. Base $C_{10}H_{15}N$, aus stark gefaultem Octopusfleich erhalten von Oechsner de Coninck[2]). Leicht gelbliche, schleimige Flüssigkeit von angenehmem Geruche, in Wasser wenig, in Alkohol und Aether sehr löslich, siedet gegen 230° unter beginnender Zersetzung, bräunt sich schnell an der Luft und scheidet dickes Harz ab. Zerfliessliches salzsaures und bromwasserstoffsaures Salz, an der Luft schnell sich zersetzend. Platindoppelsalz in kaltem Wasser unlöslich, in warmem Wasser sehr leicht gelöst, durch kochendes Wasser, auch an feuchter Luft zersetzt. Setzt man zu der noch heissen Lösung des Jodmethylats einen Tropfen concentrirter Kalilauge, so entsteht schöne Rothfärbung, welche bald in Braun übergeht und nach einer Stunde blaugrüne Fluorescenz. Bei der Oxydation mit Kaliumpermanganat entsteht Nicotinsäure.

11. Base $C_{10}H_{17}N$, aus Reincultur von Bacterium allii auf Nähragar erhalten von Griffiths[3]). Zerfliessliche, mikroskopische Nadeln von eigenthümlichem Geruch nach Weissdorn, löslich in heissem Wasser, Alkohol, Aether. Platindoppelsalz wenig löslich in kaltem Wasser. Nach Griffiths wahrscheinlich ein Hydrocorindin.

---

12. Mydatoxin $C_6H_{13}NO_2$, aus gefaulten menschlichen Leichentheilen und gefaultem Pferdefleisch[4]). Im Vacuum zu Blättchen erstarrender, in Alkohol und in Aether nicht löslicher Syrup. In Wasser leicht lösliches Platindoppelsalz, Sm.-P. 193°.

13. Mytilotoxin $C_6H_{15}NO_2$, aus giftigen Miessmuscheln von Brieger[5]) erhalten. Golddoppelsalz, Sm.-P. 182°. Bei Destillation mit Kalilauge entsteht Trimethylamin.

14. Gadinin $C_7H_{17}NO_2$, aus gefaulten Dorschen und gefaultem Leim von Brieger[6]) gewonnen, giebt ein leicht lösliches salzsaures Salz, schwer lösliches Platindoppelsalz, kein Golddoppelsalz.

15. Typhotoxin $C_7H_{17}NO_2$, aus Reinculturen von Typhusbacillen auf Fleischbrei[7]); giebt leicht lösliches Platindoppelsalz, schwer lösliches Golddoppelsalz vom Sm.-P. 176°, schwer lösliches Pikrat.

16. Mydin $C_8H_{11}NO$, aus gefaulten menschlichen Leichentheilen, gefaultem Pferdefleisch, aus Reinculturen von Typhusbacillen auf peptonisirtem Bluteiweiss von Brieger[8]) dargestellt; riecht nach Ammoniak und zersetzt sich beim Destilliren, giebt ein sehr leicht lösliches Platindoppelsalz. Die Pikrinsäureverbindung schmilzt bei 195°.

Ptomaïne mit 2 Atomen N. 17. Base $C_2H_8N_2$, aus gefaultem Dorsch[9]), destillirt mit Aetznatron unzersetzt, ist nicht identisch mit Aethylendiamin, giebt leicht lösliches salzsaures Salz, schwer lösliches Platindoppelsalz.

18. Anthracin $C_3H_6N_2$, aus Kaninchen dargestellt, die mit Bacill. anthracis inficirt waren[10]).

19. Saprin $C_5H_{14}N_2$, aus gefaulten menschlichen Organen[11]), vom isomeren Cada-

---

[1]) Guareschi u. Mosso, Journ. f. prakt. Chem. N. F. **27**. 425. (1883.) Guareschi, Ann. di chim. e di farm. 4. Ser. **6**. 237. (1887.)

[2]) Compt. rend. **106**. 858. (1888.), **110**. 1339. (1890.), **112**. 584. (1891.), **117**. 1097. (1893.)

[3]) Compt. rend. **110**. 416. (1890.)

[4]) Brieger, Untersuchungen über Ptomaïne III. 32. (1886.)

[5]) Ebendas. III. 76. u. Arch. f. pathol. Anat. **115**. 483. (1889.)

[6]) Ebendas. I. 49. und Deutsche med. Wochenschr. 1889. S. 469.

[7]) Ptomaïne. III. 86.

[8]) Ebendas. III. 26.

[9]) Ebendas. I. 44.

[10]) Hoffa, Sitzungsber. d. phys. med. Ges. Würzburg 1889. S. 96.

[11]) Brieger, Untersuchungen über Ptomaïne. II. 46.

verin durch einzelne Reactionen unterschieden; auch dadurch, dass es kein Golddoppelsalz und ein anders krystallisirendes Platindoppelsalz bildet.

---

20. Base $C_5H_{12}N_2O_4$, aus faulenden Massen; pinselförmig angeordnete Nadeln, giebt ein in Alkohol ziemlich lösliches Platindoppelsalz[1]).

21. Base $C_7H_{18}N_2O_6$, aus faulenden Massen, bildet kurze, dicke an der Luft sich bräunende Prismen, in Alkohol unlösliches, in prismatischen Nadeln krystallisirendes Platindoppelsalz[1]).

22. Tetanin $C_{13}H_{30}N_2O_4$ wurde von Brieger[2]) dargestellt: 1. aus nicht ganz reiner 8 Tage alter Kultur von Tetanusbacillen auf Fleisch, 2. aus Haut und Muskeln vom amputirten Arm eines tetanischen Menschen, 3. aus mehrere Monate gefaulten menschlichen Leichentheilen. Diese Base bildet einen gelben Syrup, giebt zerfliessliches salzsaures Salz, das sich allmählich zersetzt. Das Platindoppelsalz bildet hellgelbe Blättchen, welche nach dem Trocknen in Wasser ziemlich schwer löslich sind.

23. Pyocyanin $C_{14}H_{14}N_2O_2$ (siehe dieses).

24. Base $C_{16}H_{24}N_2O_4$ von Lepierre[3]) aus Schafkäse erhalten, geruchlos, bitter, wenig löslich in Wasser, löslich in Alkohol; Chlorhydrat leicht lösliche, grosse Nadeln, krystallisirendes Gold- und Platindoppelsalz.

Ptomaïne mit 3 und 4 Atomen N. 25. Morrhuin $C_{19}H_{27}N_3$, aus Leberthran[4]). Dicke ölige Flüssigkeit, die in Wasser wenig löslich, in Alkohol und Aether löslich ist und schwach nach Flieder riecht; giebt ein lösliches Platindoppelsalz.

26. Base $C_{17}H_{38}N_4$, aus gefaulten Makrelen, aus der Mutterlauge der Base $C_8H_{13}N$ (siehe oben Base 7), lösliches Platindoppelsalz, welches sich beim Erhitzen auf 100° zersetzt[5]).

27. Asellin $C_{25}H_{32}N_4$, aus Leberthran[4]) bildet eine amorphe Masse, welche in Wasser unlöslich, in Alkohol und in Aether löslich ist. Das Platindoppelsalz ist in kaltem Wasser unlöslich.

28. Base $C_7H_{12}N_4O_2$ oder $C_7H_{14}N_4O_2$ aus normalem Harn[6]), spindelförmige Krystalle, in schwachem Alkohol löslich, mit Säuren krystallisirende Salze, krystallisirendes, leicht zerfliessliches Platinsalz.

Dazu kommen eine grosse Anzahl krystallisirender Basen, die besonders von Griffiths[7]) aus Harnen bei den verschiedensten Infectionskrankheiten dargestellt und analysirt sind. Diese Angaben bedürfen sehr der Bestätigung.

---

173. Leucomaïne. Im Gegensatz zu den Ptomaïnen nennt Gautier[8]) diejenigen basischen Substanzen, welche nach seiner Ansicht regelmässig als physiologische Zer-

---

1) Pouchet, Compt. rend. **97**. 1560. (1883.)
2) Brieger, Untersuchungen über Ptomaïne. III. 95.
Berliner klin. Wochenschr. 1888. No. 17.
Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. **19**. 3119. (1886.)
Arch. f. pathol. Anat. **112**. 549. (1888.)
3) Compt. rend. **118**. 476. (1894.)
4) Gautier et Mourgues, Compt. rend. **107**. 110 u. 626. (1888.)
5) Gautier, Bull. de l'acad. de méd. [2.] **15**. 82. (1886.)
6) Pouchet, Compt. rend. **97**. 1560. (1883.)
7) Compt. rend. **113**—**118**, **120**. Chem. News. **70**.
8) Bullet. de l'acad. de méd. [2.] **15**. 122. (1886.)

setzungsproducte der Eiweisskörper ohne Mitwirkung von Mikroorganismen in den thierischen Geweben während des Lebens gebildet werden, Leucomaïne (von λευκῶμα Eiweiss). Ausser einigen bereits seit längerer Zeit bekannten Stoffen: Kreatinin und Betaïn des Harns, von Pouchet aus normalem Harn isolirte Alkaloïde, Alkaloïde aus Schlangengift und normalem menschlichen Speichel (Gautier), rechnet er dazu eine Reihe von ihm aus Fleisch isolirter Basen (Xanthokreatinin u. s. w.), ferner die Basen aus Leberthran u. a. Zu einer Zusammenfassung dieser verschiedenen Körper zu einer besonderen Gruppe liegt vor der Hand kein Grund vor; einige derselben, z. B. die Basen aus Leberthran, gehören offenbar zu den Ptomaïnen und sind bei diesen besprochen worden.

Verfahren zur Isolirung der Ptomaïne.

174. 1. nach Brieger[1]). Die gefaulten Massen werden mit Salzsäure unter Vermeidung eines Ueberschusses schwach angesäuert und zum Syrup eingedampft. Während des Eindampfens soll die Reaction stets schwach sauer gehalten werden. Beim Extrahiren des Syrups mit absolutem Alkohol gehen sämmtliche Ptomaïne, auch die, deren salzsaure Verbindungen in reinem Zustande in Alkohol unlöslich sind, in diesen über. Der alkoholische Auszug wird eingedampft und der Rückstand abermals mit absolutem Alkohol ausgezogen, wobei schon in Alkohol schwer lösliche Basen z. B. salzsaures Neuridin häufig ungelöst bleiben. Das Abdampfen des alkoholischen Auszugs und Extrahiren des Rückstandes mit neuem Alkohol kann mehrmals wiederholt werden. nach Brieger.

a) Man kann den Rückstand des Alkoholauszugs mit Wasser aufnehmen und die wässerige Lösung mit Pikrinsäure versetzen, wenn es sich um die Gewinnung von Neuridin und Cholin handelt; es fällt in kaltem Wasser unlösliches Neuridin aus; beim Eindampfen der Mutterlauge scheidet sich das weniger schwer lösliche Cholinpikrat ab.

b) Die alkoholische Lösung wird mit alkoholischer Lösung von Quecksilberchlorid im Ueberschuss versetzt, der Niederschlag nach 24 Stunden abfiltrirt.

A. Der Niederschlag. Beim Auskochen desselben mit viel Wasser gehen die Ptomaïne in Lösung, die Eiweissstoffe bleiben ungelöst. Beim Erkalten des Filtrats krystallisirt das äusserst schwer lösliche Quecksilberdoppelsalz des Cholins alsbald vollständig aus, während die übrigen Basen in Lösung bleiben. Man leitet durch die abfiltrirte Mutterlauge Schwefelwasserstoff, filtrirt vom Schwefelquecksilber ab, entfernt den Schwefelwasserstoff, dampft die Lösung ein und erschöpft den Rückstand mit Alkohol. Das salzsaure Putrescin bleibt zurück, während das salzsaure Cadaverin gelöst wird. Beim längeren Stehen des alkoholischen Auszugs fallen auch die etwa in Lösung gegangenen Reste des Putrescins aus. Das im alkoholischen Filtrate gelöste Cadaverin kann einmal durch Platinchlorid

[1]) Untersuchungen über Ptomaïne. II. S. 53.

gefällt und durch Umkrystallisiren aus Wasser gereinigt werden (wobei es der Schwerlöslichkeit seines Platinsalzes wegen zuerst ausfällt, während z. B. die Platinsalze von Saprin, Mydaleïn*) löslicher sind), oder es kann durch alkoholische Quecksilberchloridlösung niedergeschlagen werden. Kocht man den entstandenen Niederschlag mit nicht zu viel Wasser aus, so krystallisirt das schwer lösliche Cadaverinquecksilberchlorid bald aus.

Ferner kann zur vollständigen Trennung von Cadaverin und Putrescin auch das verschiedene Verhalten der Quecksilber- und der Goldsalze benutzt werden, insofern das Putrescin ein ziemlich schwer lösliches Goldchloridsalz und ein leicht lösliches Quecksilbersalz bildet, während das Cadaverin sich gerade umgekehrt verhält.

B. Das Filtrat enthält noch geringe Reste von Ptomaïnen, z. B. können neben Methylguanidin Diäthylamin, Methylamin, Trimethylamin in dasselbe übergehen.

Auch des neutralen Bleiacetats und gelegentlich der Phosphormolybdänsäure, deren Verbindungen durch essigsaures Blei zerlegt werden, hat sich Brieger als Fällungsmittel bedient. Kaliumquecksilberjodid, Kaliumwismuthjodid, Kaliumcadmiumjodid räth er mit Vorsicht zu gebrauchen, da das Jod bei Zerlegung dieser Verbindungen durch Schwefelwasserstoff u. s. w. leicht Störungen bewirken kann.

nach Gautier.

175. 2. nach Gautier[1]). Man säuert die faulende Flüssigkeit mit Oxalsäure an, entfernt die beim Erwärmen auf der Oberfläche schwimmenden Fettsäuren, filtrirt und destillirt, so lange ein trübes Destillat übergeht. Auf diese Weise werden Phenol, Indol, flüchtige Fettsäuren, ein Theil des Ammoniaks u. s. w. entfernt. Der Rückstand wird mit Kalk alkalisch gemacht, filtrirt und im Vacuum bis zur Trockne destillirt.

a) Das in sehr verdünnter Schwefelsäure aufgefangene Destillat wird neutralisirt, fast bis zur Trockne eingedampft, das abgeschiedene schwefelsaure Ammoniak entfernt und die Mutterlauge mit absolutem Alkohol aufgenommen. Die die Ptomaïne enthaltende alkoholische Lösung wird destillirt, der Rückstand mit etwas Natronlauge versetzt und nach einander mit Aether, Petroläther und Chloroform extrahirt, in welche Lösungsmittel die Ptomaïne übergehen.

b) Der Rückstand wird nach dem Trocknen und Zerreiben mit siedendem Aether behandelt, welcher die fixen Basen löst. Man verdunstet den Aether, nimmt den Rückstand mit etwas angesäuertem Wasser auf und fällt die Basen durch Alkali aus.

nach v. Udránszky u. Baumann.

3. Ueber das Verfahren von v. Udránszky und Baumann zur Darstellung von Putrescin und Cadaverin siehe § 169.

---

*) Sehr giftige, noch nicht genügend bekannte Base, vergl. Brieger, Ptomaïne. II. S. 49—51.

[1]) Bull. de l'acad. de méd. [2.] **15.** 75. (1886.)

Chitosamin, Chitin, Chitosan.

176. **Chitosamin (Glykosamin*)** $C_6H_{13}NO_5$. Chitosamin wurde zuerst von Ledderhose[1]) aus Chitin durch Einwirkung rauchender Salzsäure in der Wärme erhalten. Unter denselben Bedingungen entsteht es aus Chitosan. Fr. Müller und seine Schüler[2]) erhielten es als Spaltungsproduct von Sputum- und Submaxillarmucin und von Ovomukoïd. Steudel[3]) erhielt es als Spaltungsproduct des Paramucins und Neuberg und Heymann[4]) fanden es unter den Spaltungsproducten des Pseudomucins. Nach Schmiedeberg[5]) ist es in dem Chondrosin, einem Zersetzungsproduct der Chondroïtinschwefelsäure enthalten. Es entsteht auch bei der hydrolytischen Spaltung des Eieralbumins (Seemann[6]), Langstein[7]), des Serumalbumins (Langstein[8]), des Eiweiss aus Eigelb (Neuberg[9]). Vorkommen. $C_6H_{11}O_5(NH_2)$

Zur Darstellung benutzt man am Besten Hummerschalen. Dieselben werden durch verdünnte Salzsäure und gutes Auswaschen mit Wasser von Calciumcarbonat u. s. w. befreit, in kleine Stücke zerschnitten und auf siedendem Wasserbade mit concentrirter Salzsäure bis zum Absatz krystallinischer Krusten an der Oberfläche abgedampft. Man lässt unter gutem Umrühren erkalten, filtrirt durch Leinwand, saugt mit der Wasserstrahlpumpe ab, wäscht mit wenig Wasser und Alkohol, löst in Wasser, dampft ein, filtrirt die concentrirte Lösung und lässt erkalten. Es krystallisirt salzsaures Chitosamin aus, das durch Auflösen in ca. 80 proc. Alkohol von beigemengtem Gyps befreit wird (Ledderhose). Zur Darstellung aus Sputum- oder Submaxillarmucin kocht man das Glykoproteïd 3 Stunden mit 2,5 proc. Salzsäure, entfernt nach Zufügen von Eisenchloridlösung und genauem Neutralisiren mit Natronlauge durch Aufkochen und Filtriren die Hauptmenge der Eiweissstoffe und schüttelt das Filtrat mit Benzoylchlorid und Natronlauge (auf 1 g reducirende Substanz als Traubenzucker berechnet 10 g Benzoylchlorid und 100 ccm 10 proc. Natronlauge). Die abgeschiedenen und abfiltrirten Ester werden in heissem Alkohol gelöst und durch Eingiessen der alkoholischen Lösung in viel destillirtes Wasser, Lösen des entstehenden Niederschlags in Alkohol, aber- Darstellung des salzsauren Salzes.

---

*) Der Name Chitosamin ist der alten Bezeichnung Glykosamin vorzuziehen, da mit Glykosamin neuerdings das krystallisirte Ammoniakderivat der Glykose, welches sich aus der Lösung der Glykose in aethylalkoholischem Ammoniak abscheidet und dem Chitosamin isomer ist, bezeichnet wird.

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **2**. 213. (1878—1879.) u. **4**. 139. (1880.)

[2]) Zeitschr. f. Biolog. **42**. 468. (1901.)

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **34**. 353. (1901—1902.)

[4]) Beitr. z. chem. Physiol. u. Path. **2**. 201. (1902.)

[5]) Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **28**. 355. (1891.)

[6]) Dissert. Marburg 1898.

[7]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **31**. 49. (1901—1902.)

[8]) Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. **1**. 259. (1902.)

[9]) Ber. d. d. chem. Ges. **34**. 3963. (1901.)

maliges Eintragen in Wasser und Wiederholung von Lösung und Fällung von Salzen befreit, dann durch 48 stündiges Erhitzen in eingeschlossenem Rohr mit Salzsäure von 1,1 spec. Gew. im kochenden Wasserbad gespalten. Aus der filtrirten und mit Aether ausgeschüttelten Lösung scheiden sich beim Verdunsten im Vacuumexsiccator Krystalle von salzsaurem Chitosamin ab (Fr. Müller).

Darstellung der freien Base.

Um die freie Base zu erhalten, übergiesst man das gepulverte salzsaure Salz mit etwas mehr als der äquivalenten Menge einer Lösung von Natriummethylat in absolutem Methylalkohol und fügt zu der Lösung trocknen Aether. Nach einiger Zeit scheidet sie sich in Krystallnadeln ab[1]). Nach Breuer[2]) schüttelt man die in absol. Alkohol suspendirten Krystallflitter des salzsauren Salzes (erhalten durch Eingiessen einer heissen conc. wässerigen Chlorhydratlösung in absol. Alkohol) anhaltend mit Diaethylamin. Die abfiltrirten feinen Nadeln stellen die freie Base dar.

Eigenschaften.

Chitosamin ist in Wasser leicht löslich, löslich auch in heissem Methylalkohol. Die wässerige Lösung reagirt alkalisch und zersetzt sich sehr bald unter Ammoniakentwicklung. Das salzsaure Salz bildet farblose, harte, luftbeständige und wasserfreie Krystalle. Dieselben sind polymorph. Ueber die Krystallform siehe Ledderhose (a. a. O.) und Tanret[3]). Sie verändern sich beim vorsichtigen Erhitzen bis über 100^0 nicht und lösen sich sehr leicht in Wasser, sehr schwer in Alkohol, nicht in Aether. Das bromwasserstoffsaure Salz[4]), aus Hummerpanzern in der oben beschriebenen Weise mit Hülfe von conc. Bromwasserstoffsäure dargestellt, ist mit der salzsauren Verbindung isomorph, aber in Alkohol löslicher als diese. Mit salpetersaurem oder schwefelsaurem Silber erhält man aus dem salzsauren das salpetersaure oder schwefelsaure Chitosamin in guten Krystallen.

Verhalten zu Alkalien. Reductionsvermögen.

Auf Zusatz von Alkalien färbt sich die Lösung des salzsauren Chitosamins grün, dann braunroth, endlich braun bis schwarz; es bildet sich Milchsäure und ein wenig Brenzkatechin. Die alkalische Lösung reducirt Kupferoxyd ebenso wie Glykose, desgleichen Wismuthoxyd, Indigolösung und Silberoyxd.

Verbindungen: mit Phenylhydrazin. mit p-Bromphenylhydrazin. mit Benzoësäure.

Beim Erwärmen mit essigsaurem Phenylhydrazin entsteht ebenso wie aus Traubenzucker d-Phenylglykosazon (Tiemann), beim Erwärmen mit essigsaurem p-Bromphenylhydrazin nur allmählich und in mässiger Ausbeute p-Bromphenylglykosazon. Diese Verbindung schmilzt bei 222^0 und verhält sich im Uebrigen wie Phenylglykosazon (Neuberg[5]). Beim Schütteln mit Benzoylchlorid und Natronlauge bildet sich ein krystallinisches Estergemenge, aus dem das aus Alkohol in langen Nadeln krystallisirende, in

---

1) Lobry de Bruyn u. v. Ekenstein, Ber. d. d. chem. Ges. **31**. 2476. (1898.)

2) Ebendas. **31**. 2193. (1898.)

3) Bull. soc. chim. de Paris. (3) **17**. 802. (1897.)

4) Tiemann, Ber. d. d. chem. Ges. **19**. 49 u. 156. (1886.)

5) Ebendas. **32**. 3387. (1899.), Beitr. z. chem. Physiol. u. Path. **2**. 210. (1902.)

Wasser unlösliche Tetrabenzoylchitosamin (Sm.-P. 198°) isolirt werden kann (Baumann[1]). Schüttelt man die alkalische Lösung des Chitosamins mit tropfenweise zugesetztem Phenylisocyanat unter starker Abkühlung, so scheidet sich beim Stehen eine Verbindung von Chitosamin und Isocyanat als gallertige Masse ab, die sich leicht absaugen lässt und in Wasser nur sehr schwer löslich ist. Beim einstündigen Erhitzen mit 20 proc. Essigsäure auf kochendem Wasserbad, verliert sie ein Mol. Wasser und scheidet sich beim Abkühlen als Hydantoïn $C_{13}H_{16}N_2O_5$ in schweren, grossen Krystallen ab. Es ist in kaltem Wasser und kaltem Alkohol wenig, in heissem Wasser und heissem Alkohol leicht löslich, reducirt Fehling'sche Lösung nicht und schmilzt bei 210°. Eine 0,65 proc. Lösung zeigte $[\alpha]_D = +76,9°$ (Steudel). Diese Verbindung ist für die Abscheidung des Chitosamins sehr geeignet, speciell auch für die Trennung von Aminosäuren, deren Additionsproducte mit Phenylisocyanat erst in saurer Lösung ausfallen.

mit Phenylisocyanat.

Die specifische Drehung beträgt für das salzsaure Salz nach Ledderhose (16,5 proc. Lösung) $[\alpha]_D = +70,15°$, nach Hoppe-Seyler[2]) (4 bis 14 proc. Lösung) + 71,8 bis 70,6°, nach Landolt (5 proc. Lösung) + 74,64°. Sie ist unabhängig von der Temperatur. Die Lösung zeigt Mehrdrehung. Für das bromwasserstoffsaure Salz beträgt $[\alpha]_D = +55,21° + 0,053053\,q$, wobei q die Procentmenge Wasser bedeutet, für die freie Base (1 bezw. 3 bis 4 proc. Lösung) $[\alpha]_D = +48,64°$ bezw. + 47,08° (Breuer).

Optische Eigenschaften.

Bei der Oxydation des Chitosamins mit Brom entsteht eine in Blättchen und Nadeln krystallisirende Säure, die Chitaminsäure $C_6H_{13}NO_6$, die durch salpetrige Säure in Chitarsäure $C_6H_{10}O_6$ übergeht (E. Fischer u. Tiemann[3]). Bei der Behandlung von salzsaurem Chitosamin mit Salpetersäure in der Wärme entsteht Norisozuckersäure $C_6H_{10}O_8$ bezw. ihr inneres Anhydrid, die Isozuckersäure $C_6H_8O_7$, welche letztere krystallisirt erhalten worden ist, und bei 185° schmilzt (Tiemann[4]). Die Norisozuckersäure bezw. ein Gemisch von ihr und Isozuckersäure bildet mit Cinchonin und Chinin in heissem Wasser lösliche, in kaltem wenig lösliche, sehr schön krystallisirende norisozuckersaure Salze. (Norisozuckersaures Cinchonin Sm.-P. 208°, $[\alpha]_D = +175°$). Sie lassen sich gut von den sehr viel leichter löslichen Alkaloïdsalzen der Zucker- und Schleimsäure, die aus anderen Kohlehydraten bei der gleichen Behandlung entstehen, trennen und für den Nachweis des Chitosamins benutzen (Neuberg und Wolff[5]). Durch salpetrige Säure kann die Amidogruppe im Chitosamin durch eine Hydroxylgruppe ersetzt werden (Ledderhose). Die so gebildete Chitose gährt nicht und konnte

Oxydationsproducte.

---

[1]) Ber. d. d. chem. Ges. **19**. 3220. (1886.)
Kueny, Zeitschr. f. physiol. Chem. **14**. 330. (1890.)

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **20**. 507. (1895.)

[3]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. **27**. 138. (1894.)

[4]) Ebendas. **17**. 241. (1884.), **19**. 1257. (1886.), **27**. 118. (1894.)

[5]) Ebendas. **34**. 3840. (1901.)

nicht krystallisirt erhalten werden. Bei der Oxydation mit Brom liefert sie die Chitonsäure, deren Calciumsalz $Ca(C_6H_{11}O_7)_2$ in vierseitigen Blättchen krystallisirt und die durch Oxydation mit Salpetersäure in Isozuckersäure übergeht (E. Fischer und Tiemann).

Nachweis. Zum Nachweis des Chitosamins dient das gut charakterisirte salzsaure Salz. Um Chitosamin in Flüssigkeiten, die es neben anderen Stoffen enthalten, z. B. in hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeiten von Proteïnkörpern aufzufinden, dient die Phenylisocyanatverbindung (siehe oben). Auch die durch Oxydation mit Salpetersäure aus dem Chitosamin entstehende Norisozuckersäure, welche als Bleisalz von manchen anderen gleichzeitig vorhandenen Stoffen abgetrennt werden kann und das charakteristische Cinchoninsalz bildet, leistet für die Erkennung gute Dienste.

177. **Galactosamin** wurde von Fr. N. Schulz u. Ditthorn[1]) als hydrolytisches Spaltungsprodukt des Glykoproteïds aus der Eiweissdrüse des Frosches in noch nicht reinem Zustande als salzsaures Salz erhalten. Die Isolirung geschah mit Hülfe der Benzoylverbindung. Bei der Oxydation mit Salpetersäure liefert es Schleimsäure. Weitere Untersuchung ist nöthig.

Vorkommen. 178. **Chitin** $C_{18}H_{30}N_2O_{12}$. Chitin ist ein, wie es scheint, sämmtlichen Gliederthieren, auch einigen Mollusken eigener Gewebsbestandtheil von grosser Resistenz und desshalb ziemlich leicht von anderen Stoffen trennbar. Chitin oder ein ihm sehr nahe stehender Körper findet sich auch in den Membranen einiger Pilze[2]).

Darstellung. Zur Darstellung dienen am Besten die Panzer von grossen Krebsen oder Käfern (Maikäfern), deren organischen Hauptbestandtheil es ausmacht. Dieselben werden zunächst durch Salzsäure und Wasser von anorganischen Salzen befreit und dann nach einander mit verdünnter Kalilauge, Wasser, Alkohol und Aether ausgekocht. Nach Behandlung mit Permanganatlösung, welche die letzten Spuren von Farbstoffen entfernt, bleibt das Chitin vollkommen weiss und von der Form, die ihm in den Thieren eigen war, zurück.

Eigenschaften. Es verliert zwischen 100 und 130° allmählich Wasser, kann aber lange Zeit bei 132—135° ohne Zersetzung getrocknet werden. Hoch erhitzt schmilzt es nicht, sondern verkohlt. Es färbt sich mit Jodlösung braun, die Braunfärbung geht in manchen Fällen auf Zusatz von Chlorzinklösung in Violett über. Es ist kein Lösungsmittel bekannt, durch welches Chitin unverändert gelöst wird. Der Behandlung mit starken Alkalilaugen widersteht es lange. Mit dem zehnfachen Gewicht festen Aetzkalis und ein wenig Wasser einige Zeit im Oelbad bis auf 180° erhitzt zerfällt es unter Aufnahme von 2 Mol. Wasser in 1 Mol. Chitosan (siehe unten) und

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **29**. 373. (1900.) **32**. 428. (1901.)
[2]) Winterstein, Ebendas. **21**. 134. (1895—1896.)
Gilson, Cellule T. 11. Fasc. 1. (1895.)

2 Mol. Essigsäure (Hoppe-Seyler[1]). In conc. Schwefelsäure sowie in heisser starker Salzsäure wird es zunächst unter Bildung von Stoffen gelöst, die bei der Neutralisation gefällt werden, bei längerer Einwirkung wird es unter Aufnahme von 4 Mol. Wasser in 2 Mol. Chitosamin und 3 Mol. Essigsäure gespalten[2]). Daneben bilden sich Ameisensäure, Buttersäure als secundäre Zersetzungsproducte.

179. **Chitosan** $C_{14}H_{26}N_2O_{10}$ wurde zuerst von E. Gilson[3]) aus der Gerüstsubstanz von Pilzen und aus Chitin erhalten und unter dem Namen Mycosin beschrieben, dann von Hoppe-Seyler ebenfalls aus Chitin (siehe dieses) dargestellt. Es zeigt die unveränderte Form der Chitinstücke, ist völlig unlöslich in Wasser und verdünnten Alkalien, löst sich leicht in verdünnter Salzsäure oder in Essigsäure und wird aus diesen Lösungen durch Alkalien wieder als gelbliche, amorphe Masse ausgefällt. Mit sehr verdünnter Jodlösung färbt es sich intensiv violett und verliert diese Färbung auch beim Waschen mit Wasser nicht. Beim Kochen mit conc. Salzsäure zerfällt es unter Aufnahme von 2 Mol. Wasser in 2 Mol. Chitosamin und 1 Mol. Essigsäure, daneben tritt als secundäres Product Ameisensäure auf. Mit Essigsäureanhydrid im zugeschmolzenen Rohr auf 135° erhitzt, nimmt es Acetylgruppen auf und geht in einen dem Chitin nahestehenden Körper über. In essigsaurer Lösung dreht es links, und zwar beträgt bei einer 1,34 proc. Lösung $[\alpha]_D = -17,7$ bis $17,9°$.

Verschiedenartige kohlehydrathaltige Stoffe.

180. **Chondroïtinschwefelsäure** $C_{18}H_{27}NSO_{17}$ wurde zuerst von C. Th. Mörner[4]) im Knorpel aufgefunden, in ihren Reactionen genau beschrieben und als Aetherschwefelsäure erkannt, von Schmiedeberg[5]) weiter eingehend untersucht. Sie findet sich in allen Knorpeln, auch in Enchondromen (Mörner[6]), in Skelettknochen von Rochen und Haifisch (Lönnberg[7]), in denjenigen normalen Geweben, die reichliche Menge elastischer Elemente enthalten z. B. Lig. nuchae vom Rind (Krawkow[8]), in der inneren Schicht der grossen Arterien (Mörner[6]), in geringer Menge auch in der Grundsubstanz der Knochen von Säugethieren und Fischen (Mörner[9]) Krawkow), sowie im menschlichen Harn und in Rindernieren (K. Mörner[10]), ferner in allen amyloïdentarteten Organen (Oddi[11]), Krawkow). Sie

Vorkommen. $C_{18}H_{26}NO_{13}.O.SO_2.OH$

---

1) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **27**. 3329. (1894.)
Araki, Zeitschr. f. physiol. Chem. **20**. 498. (1895.)
2) Ledderhose, Ebendas. **2**. 224. (1878—1879.)
Schmiedeberg, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **28**. 395. (1891.)
3) a. a. O. u. Bull. soc. chim. Paris 1894. No. 23. Winterstein, a. a. O.
4) Skand. Arch. f. Physiol. **1**. 210. (1889.)
5) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **28**. 355. (1891.)
6) Zeitschr. f. physiol. Chem. **20**. 357. (1895.)
7) Upsala Läkareförenings förh. **24**. 495. (Maly's Jahresb. 1889. S. 325) u. **25**. 249.
8) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **40**. 195. (1898.)
9) Zeitschr. f. physiol. Chem. **23**. 311. (1897.)
10) Skand. Arch. f. Physiol. **6**. 332. (1895.)
11) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **33**. 376. (1894.)

wurde auch in einem Fibrom nachgewiesen (Krawkow). Im Knorpel findet sie sich in Form löslicher und unlöslicher Verbindungen mit Leim und Eiweiss (z. B. als Chondromukoïd) und auch in präformirtem Zustand. Ebenso stellt das Amyloïd eine Verbindung dieser Säure und Eiweiss dar.

Darstellung. Zur Darstellung nach Schmiedeberg wird das bei der Verdauung der zerkleinerten Nasenscheidewandknorpel vom Schwein mit Pepsinsalzsäure unlöslich Zurückbleibende mit 2—3 proc. Salzsäure behandelt, die trübe salzsaure Flüssigkeit mit etwa $^1/_4$ Vol. Alkohol versetzt, die aus dem klaren Filtrat durch mehr Alkohol und Aether gefällte Masse (das sog. Peptochondrin) mit Alkohol, schliesslich mit Wasser zur Entfernung der Salzsäure durchgeknetet, in Alkali gelöst und die Lösung abwechselnd mit Kupferacetat und Kali, dann mit Alkohol versetzt. Es entsteht ein blauer Niederschlag von chondroïtinschwefelsaurem Kupferoxydkali, während der grösste Theil der Kupferoxydalbuminate in Lösung bleibt. Ueber die Einzelheiten der Darstellung und die weitere Reinigung siehe die Originalarbeit. Eine etwas einfachere Methode der Darstellung siehe bei Oddi.

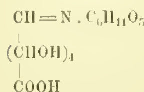
Eigenschaften. Das Kupfersalz ist ein in Wasser leicht lösliches, blaugrünes Pulver, dem Kalisalz ist immer etwas Chondroïtin beigemengt. Die freie Säure ist wegen ihrer leichten Zersetzlichkeit nicht darstellbar. Ihre wässrigen Lösungen werden durch bas. Bleiacetat, Zinnchlorür, Quecksilberoxydulnitrat gefällt, durch die meisten übrigen Metallsalze, Mineralsäuren, Essigsäure, Pikrinsäure, Gerbsäure nicht gefällt. Lösungen, welche chondroïtinschwefelsaures Kali und Eiweiss oder Leim enthalten, werden gefällt 1. durch Essigsäure (Fällung im Ueberschuss der Säure unlöslich), 2. durch Mineralsäuren (Fällung im Ueberschuss löslich), 3. ausser durch die oben genannten Salze auch durch Kupfersulfat, Bleiacetat, Eisenchlorid, Alaun. Mit Kupferoxyd und Natronlauge bildet Chondroïtinschwefelsäure eine rein blaue Lösung. Kocht man Chondroïtinschwefelsäure mit Salzsäure, so reducirt die Lösung und giebt mit Chlorbarium einen Niederschlag von Bariumsulfat.

Sie zerfällt bei Gegenwart von Salzsäure schon in der Kälte allmählich

Chondroïtin. in Schwefelsäure und Chondroïtin $C_{18}H_{27}NO_{14}$ (eine einbasische Säure, weiss, amorph, bröckelig, beim Verdunsten ihrer wässrigen Lösung eine dem arabischen Gummi ähnliche, glasige Masse bildend, nicht reducirend) und das Chondroïtin weiter beim Erhitzen mit Salzsäure in Essigsäure und Chondrosin nach der Gleichung $C_{18}H_{27}NO_{14} + 3H_2O = 3C_2H_4O_2 + C_{12}H_{21}NO_{11}$.

Chondrosin. Das Chondrosin ist eine Säure, die sich mit Säuren und Basen zu verbinden vermag, gummiartig, Fehling'sche Lösung reducirend und rechtsdrehend. Für das Sulfat (3—4 proc. Lösung), auf freies Chondrosin berechnet, beträgt $[\alpha]_D = +42,0^0$. Die Spaltungsproducte, welche bei seiner Zersetzung durch Aetzbaryt entstehen, machen es wahrscheinlich, dass es Glykuronsäure und Chitosamin enthält und dass ihm die nebenstehende Constitution zukommt. In Bezug auf die Einzelheiten der Darstellung aller

Wahrscheinliche Formel des Chondrosins:



dieser Spaltungsproducte muss auf die Arbeit von Schmiedeberg verwiesen werden.

Zum Nachweis der Chondroïtinschwefelsäure verfährt man nach C. Th. Mörner[1]) folgendermaassen. Das fein zerkleinerte Material wird bei Zimmertemperatur mit 2 Th. 2 proc. Kalilauge digerirt. Nach 2 Tagen verdünnt man mit 3 Th. Wasser, filtrirt durch Leinwand, macht das Filtrat mit Essigsäure deutlich sauer, fügt sofort überschüssiges Bariumcarbonat hinzu, kocht auf, filtrirt und dampft nach Hinzufügen von etwas Bariumcarbonat auf dem Wasserbad bis zur Trockne. Der Rückstand wird einige Minuten mit Wasser gekocht, das Filtrat mit Alkohol gefällt, der Niederschlag mit kochendem Alkohol ausgewaschen, in Wasser gelöst und die wässrige Lösung geprüft, ob sie auf Zusatz von Leimlösung und Essigsäure einen Niederschlag giebt und ob sie nach dem Kochen mit Salzsäure reducirt und freie Schwefelsäure enthält. Nachweis.

181. **Paramucosin.** Leathes[2]) isolirte aus der klaren peptischen Verdauungsflüssigkeit des Paramucins als Kupferkalisalz einen eiweissfreien Körper, der durch Lösen in Salzsäure und Fällen mit Alkohol aschefrei erhalten werden konnte. Er stellte ein weisses, wasserlösliches, hygroskopisches Pulver dar. Diese Substanz, welche erst nach längerem Kochen mit Kalilauge Biuretreaction giebt, ist nach L. eine Verbindung einer wahrscheinlich protaminartigen Base mit Paramucosin, aus der sich durch 3—4 Minuten langes Kochen mit 5—6 proc. Salzsäure und weitere Behandlung (siehe das Original) das Paramucosin als salzsaure Kupferverbindung erhalten lässt. Leathes giebt dem Paramucosin die Formel $C_{12}H_{23}NO_{10}$ und ist geneigt, es für ein reducirtes Chondrosin d. h. für eine Verbindung einer Aminohexose und einer Hexose unter Wasseraustritt zu halten. Indessen sind weder Constitution noch Formel dieses Körpers genügend begründet.

---

182. **Albamin** nennt S. Fränkel[3]) einen Körper, den er aus Ovalbumin darstellte und für ein stickstoffhaltiges Polysaccharid hält. Zu seiner Darstellung wird von Ovomukoïd getrenntes Ovalbumin 6 Stunden mit der Hälfte seines Gewichts an Aetzbaryt und Wasser gekocht, die filtrirte Flüssigkeit durch Schwefelsäure von Baryt befreit, das Filtrat mit Bleiacetat gefällt, wieder filtrirt und die bleiacetathaltige Flüssigkeit durch Ammoniak ausgefällt. Der mit ammoniakhaltigem Wasser geschüttelte Niederschlag wird mit Wasser ammoniakfrei gewaschen, mit Schwefelwasserstoff zerlegt und das Filtrat in absoluten Alkohol gegossen. Da der entstandene Niederschlag noch die Biuretreaction zeigt, so wird seine wässrige Lösung vorsichtig mit Tannin versetzt, das überschüssige Tannin aus dem Filtrat durch Bleiacetat und das Bleiacetat durch Schwefelwasserstoff entfernt. Dieses Verfahren wird bis zum Verschwinden der Biuretreaction wiederholt. Durch Fällen mit Alkohol erhielt Fränkel schliesslich eine weisse, in Wasser lösliche Substanz, die keine Phloroglucin-Salzsäurereaction gab, optisch activ war ($[\alpha]_D = +30{,}22^0$), der Formel $2(C_6H_9O_4 . NH_2) + H_2O$ entsprach und nach dem Kochen mit Säure reducirte. Aus den Producten der hydrolytischen Spaltung liess sich Chitosamin als Tetrabenzoylverbindung erhalten.

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **20**. 358. (1895.)
2) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **43**. 245. (1900.)
3) Monatsh. f. Chem. **19**. 819. (1898.)

183. **Hyalin.** Von den Mutterblasen der Echinokokken sind die jüngeren, trübe durchscheinenden Blasen mit etwa 16 pCt. schwefelsauren, phosphorsauren und kohlensauren Salzen imprägnirt, die älteren durchsichtigeren ziemlich aschefrei; die ersteren enthalten auch etwas Eiweissstoff. Die Zusammensetzung der jüngeren Blasen ist von Lücke[1]) zu C 44,1; H 6,7; N 4,5; O 44,7 pCt., die der älteren zu C 45,3; H 6,5; N 5,2; O 43,0 pCt. im Mittel gefunden. Obwohl die jüngeren Blasen wahrscheinlich wegen ihres Eiweissgehaltes etwas andere Reactionen geben als die älteren, ist doch der Hauptbestandtheil derselben, der als Hyalin bezeichnet ist, identisch. Es ist dies eine opalisirend durchsichtige Substanz, welche in Wasser, Alkohol und Aether unlöslich ist, elastische leicht zerreissende Häute bildet, die sich im zugeschmolzenen Glasrohr in Wasser bei 150° lösen, wenn sie von den älteren Blasen herstammen. Diese Lösung wird durch Alkohol, neutrales oder basisches Bleiacetat und durch salpetersaures Quecksilberoxyd gefällt, während Chlorwasser, Gerbsäure, Ferrocyankalium und Essigsäure, Silbernitrat, Quecksilberchlorid keinen Niederschlag geben. In Kali- oder Natronlauge lösen sich die Häute nur ganz allmählich und unvollständig, in Essigsäure gar nicht, in verdünnten Mineralsäuren unvollständig, in conc. Salzsäure oder Salpetersäure beim Kochen. Sowohl beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure als auch beim Stehen in concentrirter und nachherigen Eintragen in kochendes Wasser geben die Häute Traubenzucker neben nicht weiter untersuchten stickstoffhaltigen Körpern. Man erhält aus den trockenen Häuten bis 50 pCt. rechtsdrehenden, mit Hefe gährenden Traubenzucker.

---

184. **Onuphin $C_{24}H_{43}NO_{10}$.** Diese Substanz fand Schmiedeberg[2]) zu 38,5 pCt. in den Wohnröhren von Onuphis tubicola. Sie enthalten ausserdem noch 3,8 pCt. eines eiweissartigen Stoffes und Calcium- und Magnesiumphosphat. Zu seiner Darstellung behandelt man die Röhren mit verdünnter Salzsäure, wäscht mit verdünnter Salzsäure aus (beim Waschen mit Wasser quillt die Substanz hoch auf), löst den Rückstand in verdünnter Kalilauge, filtrirt und fällt das Filtrat mit 2—3 Vol. Alkohol. Es scheidet sich das Onuphin als weisse, flockige Masse ab, die nach Auswaschen mit Alkohol alsbald mit Wasser behandelt eine völlig klare, fadenziehende, bei grösserer Concentration fast gallertartige Flüssigkeit liefert. Das trockene Onuphin bildet eine an Thonerde erinnernde Masse, enthält 10—15 pCt. Asche (saures Kaliumphosphat) und giebt keine Eiweissreactionen. Es löst sich in conc. Schwefelsäure oder Salzsäure und diese Flüssigkeit reducirt nach Verdünnen mit Wasser und längerem Kochen Kupferoxyd bei Gegenwart von Alkali. Blosses Kochen mit verdünnter Säure liefert keine reducirende Flüssigkeit. Durch Gerbsäure oder Quecksilberchlorid wird Onuphin nicht gefällt, dagegen geben mehrere Metalloxyde und die Salze der alkalischen Erden in neutraler oder essigsaurer Lösung Niederschläge. Wenn die mit Salzsäure behandelten und gut ausgewaschenen Röhren im zugeschmolzenen Glasrohr mit Wasser 24 Stunden bei 120—130° erhitzt werden, bildet sich ein stickstofffreier, dextrinartiger Körper, der durch Alkohol fällbar ist und nach dem Kochen mit verdünnter Säure Kupferoxyd in alkalischer Lösung reducirt; neben dem dextrinartigen Körper scheint auch etwas Traubenzucker zu entstehen und ein Körper, der nach den Reactionen vielleicht eine Aminosäure ist. Nach Schmiedeberg ist das Onuphin als eine Verbindung eines Kohlehydrates mit einer stickstoffhaltigen Säure, wahrscheinlich einer Aminosäure, anzusehen.

---

[1]) Arch. f. pathol. Anat. **19**. 189. (1860.)
[2]) Mittheilungen a. d. zool. Station zu Neapel. **3**. 373. (1882.)

Gehirnstoffe.

185. **Protagon.** Unter diesem Namen beschreibt Liebreich[1]) einen leicht zersetzlichen, complicirt zusammengesetzten krystallisirten Körper, den er aus dem Gehirn isolirte. Es findet sich nur in den markhaltigen Nervenfasern. Die Zusammensetzung ist nach Liebreich C 66,74; H 11,74; N 2,80; P 1,23; O 17,49 pCt. Die späteren Analysen von Gamgee und Blankenhorn[2]) ergaben für denselben Körper C 66,39; H 10,69; N 2,39; P 1,06 pCt. Mit diesen Werthen stimmen die Ergebnisse der Untersuchungen von Baumstark[3]) sehr nahe überein, nach welchen das Protagon C 66,53; H 11,04; N 2,35; P 1,066 pCt. enthält. Kossel[4]) erhielt Körper derselben Zusammensetzung; andere Präparate aber, welche nach einer etwas abweichenden Methode dargestellt waren, zeigten abweichende Werthe. Kossel fand auch im Protagon einen Schwefelgehalt von 0,5 bis 0,8 pCt. Auch Wörner und Thierfelder[5]) fanden die Protagonpräparate wechselnd zusammengesetzt, so dass sie das Protagon nicht als einheitlichen Körper ansehen. Lilienfeld[6]) erhielt Protagon (P 1,13 pCt.) aus den Leukocyten der Thymusdrüse. Vorkommen u. Zusammensetzung.

Zur Darstellung desselben wird die von Blut und Häuten möglichst vollständig gereinigte und zerkleinerte Gehirnmasse mit kaltem Alkohol einige Tage stehen gelassen, dann der Alkohol abgegossen, die Masse möglichst fein zerrieben oder besser durch ein feines Sieb mit einem breiten, kurzborstigen Pinsel hindurchgetrieben, mehrere Stunden lang mit 85 proc. Alkohol bei 45° digerirt und warm filtrirt. Die ungelöste Gehirnsubstanz wird mit neuen Mengen Alkohol in derselben Weise so oft behandelt, als sich beim Abkühlen des Filtrats auf 0° noch ein gelblichweisser, flockiger Niederschlag abscheidet. Die vereinigten Niederschläge werden zur Entfernung von Cholesterin und Lecithin mit Aether geschüttelt, abfiltrirt und über Schwefelsäure getrocknet, dann mit etwas Wasser angerührt, in Alkohol vertheilt und langsam auf 45° erhitzt. Das beim Abkühlen der abfiltrirten Lösung sich abscheidende Protagon wird mit Aether nochmals gewaschen und wiederholt in dieser Weise umkrystallisirt. Darstellung.

Es bildet bei der langsamen Abscheidung aus alkoholischer Lösung mikroskopische Nadeln, welche sich rosettenförmig zusammenlagern und bei der Ausscheidung aus ganz conc. Lösung gekrümmte Form zeigen. Die Krystallgruppen haben oft das Ansehen von scharf contourirten, radial gestreiften Knollen mit höckerigen oder gezackten Rändern. Zerrieben und über Schwefelsäure getrocknet bildet es ein weisses, nicht hygroskopisches Eigenschaften.

---

1) Ann. Chem. Pharm. **134**. 29. (1865.)
2) Zeitschr. f. physiol. Chem. **3**. 260. (1879.) 3) Ebendas. **9**. 145. (1885.)
4) Arch. f. Anat. u. Physiol., Physiol. Abth. 1891. S. 359.
Kossel u. Freytag, Zeitschr. f. physiol. Chem. **17**. 431. (1893.)
5) Ebendas. **30**. 542. (1900.) 6) Ebendas. **18**. 475. (1894.)

Pulver. Es löst sich schwer in kaltem Alkohol, leicht in warmem Alkohol und warmem Aether. Mit Wasser quillt es gelatinös und bildet schliesslich eine opalescirende Lösung. Bei 180° beginnt es sich zu bräunen und bei 200° zu schmelzen.

Zersetzungen. In alkoholischer Lösung über 48° erhitzt, ebenso mit Aether anhaltend gekocht, zersetzt es sich. Beim Kochen mit Barytwasser zerfällt es; es entstehen dabei die Zersetzungsproducte des Lecithins und Cerebroside (§ 186). Auch die Salze schwerer Metalle, z. B. Bleiacetat, sind im Stande, Cerebroside abzuspalten.

Vorkommen und Darstellung. 186. **Cerebroside.** Diese Stoffe bilden sich bei der Verseifung des Protagons durch Alkalien oder Aetzbaryt. Man kann diese Behandlung ohne vorherige Darstellung des Protagons direct mit der frischen Gehirnmasse vornehmen, indem man dieselbe mit Barytwasser aufkocht und aus dem entstandenen Niederschlag die Cerebroside mit heissem Alkohol extrahirt (Parkus[1]). Kossel löst zur Darstellung der Cerebroside das Protagon in Methylalkohol, versetzt mit einer heissen Lösung von Aetzbaryt in Methylalkohol unter Umschütteln und erwärmt einige Minuten auf dem Wasserbade. Der entstandene Niederschlag wird dann abfiltrirt, in Wasser zertheilt und durch Kohlensäure zerlegt. Man filtrirt ab, erwärmt den Rückstand mit Alkohol und filtrirt wieder, beim Erkalten scheiden sich die Cerebroside ab. Parkus trennte die nach seiner Methode erhaltenen Cerebroside in 3 verschiedene Körper, die er als Cerebrin, Homocerebrin und Enkephalin bezeichnet, durch Umkrystallisiren aus Alkohol, in dem Cerebrin weniger löslich ist als die beiden anderen genannten Stoffe. Die Scheidung von Homocerebrin und Enkephalin bewirkte er durch Aceton. Kossel isolirte aus dem von ihm dargestellten Stoffe zwei Körper, die mit dem Cerebrin und Homocerebrin von Parkus identisch sind. Auch die von Thudichum[2]) mit Hülfe eines eigenthümlichen Verfahrens gewonnenen Stoffe, Phrenosin und Kerasin genannt, entsprechen in ihren Eigenschaften dem Cerebrin und Homocerebrin.

Cerebrin (Phrenosin) C 69,08; H 11,47; N 2,13 pCt. nach Parkus, in heissem Alkohol, Aceton, Chloroform löslich, in kaltem und heissem Aether unlöslich, scheidet sich aus alkoholischen Lösungen als krystallinisches Pulver ab, welches aus farblosen Globuliten besteht. Die knolligen Aggregate sind durchsichtig und haben glatte Ränder, getrocknet bilden sie ein leichtes, lockeres Pulver, welches in heissem Wasser wenig aufquillt. Sm.-P. bei 170° oder 176°. Erhitzt riecht es nach verbranntem Fett und brennt mit leuchtender Flamme. Beim Zerreiben mit concentrirter Schwefelsäure tritt allmählich eine Rothfärbung ein. Bei der Oxydation mit Salpetersäure entsteht Stearinsäure.

---

[1]) Journ. f. pract. Chem. N. F. **24**. 310. (1881.)

[2]) Grundzüge d. anatom. u. klin. Chem. Berlin 1886.

Homocerebrin (Kerasin) C 70,06; H 11,59; N 2,23 pCt. steht an Menge dem Cerebrin nach, löst sich in denselben Flüssigkeiten wie dieses, ausserdem in warmem Aether und ist in Alkohol löslicher. Aus langsam verdunstenden Lösungen scheidet es sich in feinen, nadelförmigen Gebilden ab, welche oft eine zusammenhängende Gallerte darstellen. Getrocknet bildet es eine wachsartige, schwer zerreibliche Masse. In heissem Wasser quillt es auf, ohne Kleister zu bilden. Sm.-P. bei 155⁰. Gegen concentrirte Schwefelsäure verhält es sich wie Cerebrin. Von Kossel wurde (ebenso wie aus Cerebrin) eine Bromverbindung dargestellt, sie ist linksdrehend $[\alpha]_D = -12{,}48^0$. Durch Oxydation mit Salpetersäure entsteht Stearinsäure.

Enkephalin C 68,40; H 11,60; N 3,09 pCt., nur in geringer Menge vorhanden und wahrscheinlich erst während der Darstellung aus Cerebrin und Homocerebrin entstanden. Es scheidet sich in leicht gekrümmten, schönen Blättchen aus und kann dabei auch Gallerte bilden. In heissem Wasser quillt es zu einem vollständigen Kleister.

Diese drei Cerebroside spalten bei mehrstündigem Erhitzen auf 120⁰ mit verdünnter Schwefelsäure Galactose[1]) ab, welche durch Einengen der filtrirten und von Schwefelsäure befreiten Flüssigkeit leicht krystallinisch erhalten werden kann. Zersetzung.

Beim Lösen eines nicht weiter gereinigten Cerebrosidgemenges in conc. Schwefelsäure und Eintragen der Lösung in kochendes Wasser erhielt Geoghegan[2]) neben Ammoniak und einer reducirenden Substanz einen mit Wasser kleisterartig quellenden, stickstofffreien, in Aether leicht löslichen, bei 62—65⁰ schmelzenden Körper. Dieses von ihm sogenannte Cetylid gab beim Schmelzen mit Kali im Oelbade bis 300⁰ Palmitinsäure. Es wurden gegen 85 pCt. Cetylid erhalten.

Pyosin, Pyogenin. Zu den Cerebrosiden können auch diese von Hoppe-Seyler[3]) aus Milz und aus Eiterkörperchen, später von Kossel (a. a. O.) aus Eiterkörperchen isolirten Stoffe gezählt werden. Pyosin enthält C 64,34; H 10,43; N 2,64 pCt. und Pyogenin C 62,62; H 10,45; N 2,47 pCt. Sie krystallisiren in Knollen, zeigen die Löslichkeitsverhältnisse der Cerebroside und spalten beim Erhitzen mit Schwefelsäure ein Kupferoxyd reducirendes Kohlehydrat ab. Auch aus Spermatozoën hat Kossel ein Cerebrosid erhalten.

187. **Cerebron**[4]) wurde aus der weissen Masse, welche sich aus den ätherischen Auszügen der mit Alkohol entwässerten Gehirne beim Abkühlen absetzt, durch ein Verfahren dargestellt, bei dem nur Aethyl- und Methylalkohol, Chloroform und Benzol, sowie eine Temperatur unter 50⁰ zur Anwendung kamen. Vorkommen und Darstellung.

Es bildet eine schneeweisse Masse von der Zusammensetzung C 69,16; H 11,54; N 1,76 pCt., schmilzt bei 212⁰ ohne Zersetzung, quillt nicht mit Wasser und löst sich in reinem und chloroform- oder benzolhaltigem Al- Eigenschaften.

---

[1]) Thierfelder, Zeitschr. f. physiol. Chem. **14**. 209. (1890.), Thudichum, a. a. O. [2]) Ebendas. **3**. 332. (1879.)

[3]) Med. chem. Unters. Heft 4. S. 486. 1871.

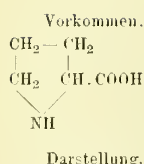
[4]) Wörner u. Thierfelder, Zeitschr. f. physiol. Chem. **30**. 542. (1900.)

kohol in der Wärme, um beim Erkalten wieder auszufallen. Aus 50 pCt. Benzol enthaltendem Alkohol scheidet es sich in knolligen Gebilden, aus heissem 20 pCt. Chloroform enthaltendem Aceton in concentrisch zusammengestellten Nädelchen oder Blättchen ab. In 85proc. Alkohol suspendirt und einer Temperatur von 50° ausgesetzt, backt die amorphe Masse zusammen und allmählich wachsen aus den Knollen nadel- und blättchenförmige Krystalle (sechsseitige Tafeln) heraus. Cerebron addirt Brom. Beim Zusammenreiben mit conc. Schwefelsäure tritt Gelbfärbung und Rothfärbung der ungelösten Flocken ein; beim Kochen des Cerebrons mit verdünnter Säure wird Galactose abgespalten.

Ueber die Beziehungen dieses Körpers zu den Cerebrosiden spec. zu dem Cerebrin müssen weitere Untersuchungen entscheiden. Seiner Darstellung nach ist es nicht als ein Spaltungsproduct, sondern als ein im Gehirn vorgebildeter Stoff anzusehen.

α-Pyrrolidincarbonsäure $C_5H_9NO_2$.

Vorkommen.



188. Von den drei stereoïsomeren Modificationen ist die l- und die i-Säure bekannt. Die l-Säure wurde von E. Fischer[1]) unter den Producten der Säurespaltung von Caseïn, Eieralbumin, Fibrin und Leim und unter den Producten der tryptischen Spaltung des Caseïns aufgefunden.

Darstellung. Die synthetisch von Willstätter[2]) und E. Fischer[3]) dargestellte Säure ist die inactive Form. Durch fünfstündiges Erhitzen von 1 g activer Säure mit 2 g krystallisirtem Baryt und 4 g Wasser entsteht inactive. Ueber die Darstellung der l-Säure aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteïnkörper siehe § 156.

Eigenschaften. Beide Modificationen sind in Wasser und Alkohol leicht löslich. Die l-Säure krystallisirt aus Wasser in flachen Nadeln, die rasch erhitzt bei 203—206° unter Entwicklung von Gas und Pyrrolidingeruch schmelzen. Die i-Säure schmilzt gegen 205° unter Aufschäumen. Das Kupfersalz der l-Säure ist in Alkohol löslich und bleibt beim Verdunsten des Alkohols als tiefblaue, amorphe Masse zurück, das Kupfersalz der i-Säure ist in Alkohol unlöslich, krystallisirt mit 2 Mol. Wasser in blauen, glänzenden Blättchen, die sich beim Trocknen violett färben und an feuchter Luft wieder blau werden. Auch aus verdünnter Lösung wird die Säure bei Gegenwart von Schwefelsäure durch Phosphorwolframsäure gefällt.

Aethylester. Der Aethylester der i-Säure siedet unter 11 mm Druck bei 75—76°.

Phenylisocyanatverbindung. Die nach § 156,4 hergestellte Phenylisocyanatverbindung der l-Säure fällt auf Zusatz von Salzsäure als harzige Masse aus. Fügt man nun soviel Salzsäure hinzu, dass die Lösung etwa 4 pCt. enthält und engt auf

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **33.** 150 u. 412. (1901.), **35.** 70. (1902.)
[2]) Ber. d. d. chem. Ges. **33.** 1160. (1900.) [3]) Ebendas. **34.** 454. (1901.)

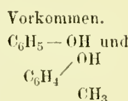
dem Wasserbad ein, so treten Krystalle auf, die nach dem Erkalten abfiltrirt und aus kochendem Wasser umkrystallisirt als flache Nadeln vom Sm.-P. 143° erscheinen und das Anhydrid der Phenylisocyanatverbindung darstellen. Die entsprechende Verbindung der i-Säure krystallisirt aus heissem Alkohol in feinen Prismen vom Sm.-P. 118°.

Optische Eigenschaften. Für eine 7,4 proc. wässerige Lösung betrug $[\alpha]_D^{20^0} = -77,40^0$, für eine Lösung, die 7,68 pCt. der Säure und 20 pCt. Salzsäure enthielt, $[\alpha]_D^{20^0} = -46,53^0$, für eine alkalische 5,73 pCt. Säure enthaltende $[\alpha]_D^{20^0} = -83,48^0$. Indessen sind die Werthe vielleicht nicht ganz genau.

Nachweis. Zum Nachweis der nach § 156 isolirten Säure dienen besonders der Schmelzpunkt sowie die Analyse, das Verhalten und die Analyse des Kupfersalzes, und der Schmelzpunkt des Anhydrids der Phenylisocyanatverbindung.

Phenole.

Vorkommen. 189. **Phenol C_6H_6O** und **Kresole C_7H_8O**. Diese Körper[1]) entstehen bei der Fäulniss von Eiweiss und Tyrosin und beim Behandeln dieser Stoffe mit schmelzendem Alkali. Im freien Zustande finden sie sich im Darm und in Spuren im Pferdeharn. Sie werden aber in grösserer oder geringerer Menge beim Erhitzen von Harn mit verdünnter Salz- oder Schwefelsäure gebildet, indem bei dieser Behandlung ihre im Harn besonders der Pflanzenfresser ziemlich reichlich enthaltenen Schwefelsäureverbindungen (Aetherschwefelsäuren) eine Spaltung unter Wasseraufnahme erfahren. Der grössere Theil der Phenole in Fäulnissgemischen und im Harne besteht aus p-Kresol, der kleinere aus Phenol, ausserdem findet sich im Menschenharn noch o-Kresol.



Isolirung. Um die in Flüssigkeiten in freiem Zustande vorhandenen Phenole zu isoliren, destillirt man, bis eine Probe des Destillats beim Kochen mit Millon's Reagens (Anh.) nicht mehr roth gefärbt wird. Um auch die als Aetherschwefelsäuren im Harne enthaltenen Phenole zu erhalten, destillirt man mindestens 200 ccm davon mit 50 ccm rauchender, roher Salzsäure, bis 50—70 ccm Destillat übergegangen sind. Die in beiden Fällen erhaltenen Destillate, welche ausser den Phenolen noch flüchtige Säuren, Indol u. s. w. enthalten können, werden mit Alkali stark übersättigt und abermals destillirt. Es gehen Ammoniak, Indol, Skatol über. Die rückständige Flüssigkeit lässt man erkalten, sättigt mit Kohlensäure, um die Phenole aus ihren Natriumverbindungen frei zu machen, und destillirt abermals. Das Destillat prüft man mittelst der unten bezeichneten Reactionen. Ist auf Indol und Skatol nicht Rücksicht zu nehmen, so über-

[1]) E. Baumann, Zeitschr. f. physiol. Chem. **6**. 183. (1882.)
Brieger, Ebendas. **4**. 204. (1880.)

sättigt man das erste Destillat mit Natriumcarbonat und destillirt sogleich die Phenole ab.

Für die Abtrennung des p-Kresols von Phenol und o-Kresol hat sich die Ueberführung in die Sulfosäuren durch concentrirte Schwefelsäure und Darstellung der Barytsalze bewährt. Die Destillate, welche Phenol und Kresole enthalten, werden zu dem Zweck mit überschüssigem Alkali versetzt, eingedampft, dann angesäuert und mit Aether mehrmals ausgeschüttelt. Man verdunstet die abgetrennte Aetherlösung, trocknet den Rückstand mit Chlorcalcium und destillirt. Das Destillat wird mit dem gleichen Gewicht concentrirter Schwefelsäure eine Stunde auf dem Wasserbade erwärmt, mit Wasser verdünnt, mit Baryt neutralisirt und filtrirt, das Filtrat bis nahe zur Krystallisation eingedampft und mit überschüssigem, concentrirtem Barytwasser versetzt. Nach zwölfstündigem Stehen wird das abgeschiedene basische p-kresolsulfosaure Barium abfiltrirt, das Filtrat durch Kohlensäure von überschüssigem Baryt befreit, filtrirt, auf kleines Volumen abgedampft, abermals mit concentrirtem Barytwasser gefällt und nach 12 Stunden abfiltrirt. Durch das Filtrat leitet man Kohlensäure, filtrirt, verdampft zur Trockne und wägt den Rückstand, welcher das phenolsulfosaure und das o-kresolsulfosaure Barium enthält. Die Niederschläge werden in Wasser zertheilt und mit Kohlensäure behandelt. Das Filtrat wird verdunstet, getrocknet und gewogen. Man erfährt so das Gewicht des p-kresolsulfosauren Bariums. Eine Abtrennung des o-Kresols ist nicht ausgeführt, es wird durch die Bildung von Salicylsäure beim Schmelzen des Phenolgemisches mit Kali nachgewiesen.

Eigenschaften. Phenol schmilzt bei 42°, siedet bei 180°, löst sich in 15 Theilen Wasser bei gewöhnlicher Temperatur, färbt sich in nicht allzu verdünnter wässeriger Lösung mit Eisenchlorid violett; dieselbe Färbung erfahren damit seine sulfosauren Salze.

p-Kresol schmilzt bei 36°, siedet bei 199°, ist schwer löslich in Wasser, wird in wässeriger Lösung von Eisenchlorid blau gefärbt.

o-Kresol schmilzt bei 31—31,5°, siedet bei 185—186°.

Nachweis des Phenols und p-Kresols. Zum Nachweis des Phenols und p-Kresols in wässerigen Lösungen z. B. in dem in der oben beschriebenen Weise erhaltenen Destillat dienen folgende Reactionen:

1. Beim Kochen mit Millon's Reagens entsteht Rothfärbung der Flüssigkeit oder auch rother Niederschlag. Diese sehr empfindliche Reaction geben fast alle Phenolderivate, welche eine Hydroxylgruppe am Benzolring enthalten (Nasse).

2. Auf Zusatz von Bromwasser zu einer Probe der Lösung entsteht sofort oder alsbald milchige Trübung, dann Niederschlag von gelblichweissen, seideglänzenden Nadeln oder käsigen Flocken, die im Wesentlichen aus Tribromphenol bestehen. Empfindliche Probe.

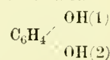
3. Eine Probe der Flüssigkeit wird durch ein Paar Tropfen ver-

dünnter Eisenchloridlösung violett bis blau gefärbt. Die Reaction der Flüssigkeit muss für diese nicht sehr empfindliche Probe völlig neutral sein.

Nachweis des o-Kresols.

Zum Nachweis des o-Kresols löst man die Kalischmelze des Phenolgemisches in Wasser, säuert mit Schwefelsäure an, schüttelt mit Aether aus und extrahirt den Verdampfungsrückstand des Aetherauszugs mit Chloroform. In dieses geht nur die aus dem o-Kresol entstandene Salicylsäure über, die sich durch Violettfärbung ihrer wässrigen durch Destillation von Phenol befreiten Lösung auf Zusatz von Eisenchlorid nachweisen lässt.

Vorkommen.



190. **Brenzcatechin** $C_6H_6O_2$. Brenzcatechin (E. Baumann) findet sich als Brenzcatechinschwefelsäure sehr häufig im Menschenharn in kleinen Mengen, reichlicher und regelmässig im Pferdeharn, fehlt aber im Harn von Thieren, die allein mit Fleisch gefüttert sind. In vermehrter Menge tritt es nach Eingabe von Phenol oder Benzol auf. Im Pferdeharn ist es auch im freien Zustande enthalten. Die Angabe von Halliburton[1]), dass es in der Cerebrospinalflüssigkeit vorkomme, konnte Nawratzki[2]) nicht bestätigen.

Darstellung.

Um aus dem Harne (zweckmässig nach Eingabe von Phenol oder Benzol) Brenzcatechin und Hydrochinon (§ 191) zu erhalten, wird derselbe stark mit Salzsäure angesäuert, eine halbe Stunde auf siedendem Wasserbade digerirt und nach dem Erkalten mehrmals mit Aether extrahirt. Die Aetherlösungen schüttelt man zur Entfernung der Säuren wiederholt mit verdünnter Sodalösung, so lange diese sich noch färbt, destillirt den Aether ab, versetzt den Rückstand mit gesättigter Lösung von Kochsalz oder Natriumsulfat, um Phenol und Kresol abzuscheiden, filtrirt und destillirt die mit Wasser verdünnte Lösung, um Phenol und Kresol ganz zu entfernen. Nach dem Erkalten wird mit Aether extrahirt. Beim Verdunsten der abgegossenen Aetherauszüge bleiben Brenzcatechin und Hydrochinon als Syrup zurück, der krystallinisch erstarrt, wenn nicht sehr wenig Hydrochinon sich darin befindet. Man löst den Rückstand in Wasser und fällt die Lösung mit Bleiacetat aus unter Vermeidung eines Ueberschusses. Hierdurch wird Brenzcatechin gefällt, Hydrochinon nicht. Der Bleiniederschlag wird in Wasser zertheilt, mit Schwefelsäure zerlegt und mit Aether geschüttelt. Beim Verdunsten der abgegossenen Aetherlösung bleibt Brenzcatechin in kaum gefärbten Prismen zurück, wenn seine Quantität nicht sehr gering ist. Die vom Bleiniederschlag abfiltrirte Flüssigkeit wird angesäuert und mit Aether extrahirt. Die abgegossene Aetherlösung hinterlässt beim Verdunsten das Hydrochinon als gelben bis braunen Rückstand, der bald krystallinisch erstarrt. Durch Umkrystallisiren aus heissem Benzol oder Toluol wird es rein gewonnen.

Isolirung.

Um Brenzcatachin für die Zwecke des Nachweises zu isoliren, destillirt man den mit Salzsäure versetzten Harn bis keine flüchtigen Phenole mehr entweichen (§ 189), schüttelt die zurückgebliebene Flüssigkeit nach dem

---

[1]) Journ. of physiol. **10**. 232. (1889.) [2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **23**. 532. (1897.)

Erkalten mit Aether und den Aetherauszug mit verdünnter Sodalösung. Der Aether wird verdunstet, der Rückstand mit wenig Wasser aufgenommen und die filtrirte wässerige Lösung, wie weiter unten angegeben, auf Brenzcatechin geprüft.

Eigenschaften. Brenzcatechin schmilzt bei 104°, siedet ohne Zersetzung bei 245,5° und sublimirt schon vorher zu glänzenden Krystallblättchen. Es löst sich leicht in Wasser, Alkohol, Aether und kaltem Benzol. Seine wässerige Lösung wird durch Bleiacetat gefällt; sie färbt sich mit Eisenchlorid grün, bei nachherigem Zusatz von Natriumbicarbonat oder Ammoniak violett. Mit salpetersaurem Silber und etwas Ammoniak tritt Reduction von Silber ein, ebenso wird Fehling'sche Lösung beim Erwärmen reducirt. Durch Alkalien werden seine Lösungen unter Braunfärbung zersetzt.

Nachweis. Zum Nachweis des Benzcatechins dient besonders das Verhalten seiner wässerigen Lösung gegen Eisenchlorid und gegen Silbernitrat und Ammoniak.

Vorkommen. $C_6H_4\begin{matrix}OH(1)\\OH(4)\end{matrix}$ 191. **Hydrochinon $C_6H_6O_2$.** Hydrochinon wurde als Hydrochinonschwefelsäure im Harn von Menschen und Thieren gefunden, denen Benzol oder Phenol beigebracht war, vielleicht enthält auch der normale Harn sehr geringe Spuren davon (E. Baumann).

Ueber seine Darstellung aus Harn siehe § 190.

Eigenschaften. Es schmilzt bei 169°, löst sich in Wasser im Verhältniss 1 : 17 bei 15°, leicht in Alkohol oder Aether, sehr schwer in kaltem Benzol. Seine wässerige Lösung wird durch Bleiacetat nicht gefällt. Erhitzt man eine kleine Portion Hydrochinon im offenen Probirrohre, so färbt sich das Sublimat indigblau. Durch oxydirende Substanzen, z. B. beim Kochen mit Eisenchlorid, verwandelt es sich in Chinon, dessen eigenthümlicher starker Geruch es leicht erkennen lässt. Das Chinon sublimirt schon bei gewöhnlicher Temperatur und bildet goldgelbe Prismen. Wässerige Lösung von Hydrochinon reducirt Silber aus Silbernitratlösung sogleich in der Kälte und wird durch Ammoniak braun gefärbt. Mit Millon's Reagens werden Lösungen von Hydrochinon in der Kälte gelb gefärbt; nach kurzer Zeit entsteht ein gelber Niederschlag, der sich bei Erhitzen ziegelroth färbt.

Vorkommen. $C_6H_6(OH)_6$ 192. **i-Inosit (Hexahydrohexaoxybenzol)** $C_6O_{12}H_6$ in verschiedenen Pflanzen, im frischen Traubensafte und im Weine, besonders in grünen Bohnen enthalten und daraus leicht in grösserer Quantität darzustellen, findet sich in geringer Menge im Herzfleische, auch in anderen Muskeln, besonders bei Säufern, in der Leber, Milz, Lunge, in den Nieren, Nebennieren, Leukocyten, im Gehirn. Im Harne ist Inosit besonders bei Albuminurie und bei Diabetes mellitus gefunden; Spuren von Inosit finden sich nicht nur bei Polyurie, sondern in jedem normalen Harne. Auch die Flüssigkeit von Echinokokken in der Leber enthält etwas Inosit. In den Samen von Sinapis ist Inosit in Form einer phosphorhaltigen Verbindung enthalten[1]).

Isolirung aus Gewebsflüssigkeiten. Die Isolirung des Inosits aus Gewebsflüssigkeiten geschieht nach Boedeker[2]) folgendermaassen: Man versetzt die Flüssigkeiten (wässerige Extracte der Muskeln, Drüsen, Lunge u. s. w.) nach Coaguliren der Eiweiss-

[1]) Winterstein, Ber. d. d. chem. Ges. **30**. 2299. (1897.)
[2]) Ann. Chem. Pharm. **117**. 118. (1861.)

stoffe, Ausfällen der Phosphorsäure durch Barytwasser, Eindampfen und Auskrystallisiren des Kreatins kochend mit dem ein- bis vierfachen Volumen Alkohol. Entsteht hierdurch ein starker, am Glase haftender Niederschlag, so giesst man die heisse alkoholische Lösung einfach ab; entsteht aber ein flockiger, nicht klebriger Niederschlag, so filtrirt man sie durch einen zuvor erhitzten Trichter und lässt erkalten. Wenn sich nach 24 Stunden Gruppen von Inositkrystallen abgesetzt haben, so filtrirt man und spült die Krystalle mit wenig kaltem Alkohol ab. In diesem Falle ist es rathsam, um keinen Verlust an Inosit zu erleiden, den auf Zusatz von heissem Alkohol erhaltenen Niederschlag, in wenig kochendem Wasser zu lösen, die heisse Lösung wiederum mit dem drei- bis vierfachen Volumen Alkohol zu fällen und, wie oben angegeben, weiter zu verfahren. Haben sich aber keine Inositkrystalle abgeschieden, so versetzt man das klare alkoholische Filtrat nach und nach unter Umschütteln mit Aether, bis eine geringe milchige Trübung nicht wieder verschwindet und lässt dann 24 Stunden stehen. Hat man hinreichend Aether zugesetzt (ein Ueberschuss von Aether schadet nicht, bewirkt nur die Bildung kleinerer Krystalle), so ist aller Inosit in Form schön perlmutterglänzender Blättchen abgeschieden. Für die Isolirung aus Harn ist es zweckmässig das Filtrat von der Barytfällung zunächst nach dem Erhitzen mit Bleiessig sorgfältig und unter Vermeidung eines Ueberschusses auszufällen, den nach einiger Zeit abfiltrirten Niederschlag auszuwaschen, mit Schwefelwasserstoff zu zerlegen, das Filtrat einzudampfen und nun weiter, wie oben beschrieben, zu verfahren.

Isolirung aus Harn.

Eigenschaften.

Inosit krystallisirt mit 2 Mol. Wasser, in reinem Zustande in farblosen, grossen, rhomboëdrischen Krystallen des monoklinoëdrischen Systems, im unreinen in zarten dendritischen Vegetationen. In trockner Luft und bei 100° verlieren die Krystalle das Krystallwasser. Getrocknet schmelzen sie bei 225° und beim Erkalten erstarrt die Masse zu feinen Nadeln. Er löst sich leicht in Wasser (1 : 75), ist dagegen in starkem Alkohol oder Aether unlöslich. Die wässerige Lösung besitzt süssen Geschmack, giebt mit Hefe versetzt keine alkoholische Gährung, bewirkt keine Circumpolarisation*), löst Kupferoxydhydrat, ohne es beim Kochen zu reduciren, und wird durch Bleiessig bei gewöhnlicher Temperatur nach einiger Zeit, beim Kochen sogleich gallertig gefällt. Mit Phenylhydrazin giebt Inosit keine Verbindung. Beim Erhitzen von entwässertem Inosit mit Acetylchlorid am Rückflusskühler auf 50° erhält man Hexaacetylinosit, bei 200° sublimirende und bei 212° schmelzende Krystalle; ferner ist Hexabenzoylinosit[1]), bei 258° schmelzende Nadeln dargestellt. Mit concentrirter Salpetersäure digerirt geht Inosit in das Hexanitrat über, welches

*) Es sind ausserdem noch rechtsdrehender, linksdrehender und sog. Traubeninosit bekannt. Diese hat man bisher in den Organismen nicht gefunden.

1) Maquenne, Compt. rend. **104**. 225, 297 u. 1719. (1887.)
Fick, Pharm. Zeitschr. f. Russland. **26**.

durch Schwefelsäure gefällt wird, in Alkohol löslich ist und Silberoxyd sowie Kupferoxydhydrat reducirt.

Zersetzungen. Durch Kochen mit Salzsäure oder verdünnter Schwefelsäure oder Alkalien wird Inosit nicht verändert. Mit Jodwasserstoff auf 170° erhitzt bildet er etwas Benzol und Trijodphenol. Bei Gegenwart von faulenden Eiweissstoffen zerfällt er in wässeriger Lösung unter Bildung von Milchsäure und Buttersäure u. z. ist sowohl i- als d-Milchsäure[1]) gefunden worden.

Nachweis. Zum Nachweis des Inosits, dem die Isolirung vorangehen muss, dienen folgende Reactionen:

1. Scherer's Probe[2]). Verdunstet man eine kleine Menge mit Salpetersäure auf dem Platinblech fast zur Trockne, fügt zum Rückstand etwas Ammoniak und einen Tropfen Chlorcalciumlösung und dampft vorsichtig zur Trockne, so erhält man eine schön rosarothe Färbung (Rhodizonsäure). Diese Reaction gelingt aber nur, wenn der Inosit schon ziemlich rein ist.

2. Seidel's Probe[3]). Die Ausführung ist dieselbe, man verwendet nur statt des Chlorcalciums wenige Tropfen einer Strontiumacetatlösung, worauf sich eine Grünfärbung mit violettem Niederschlag zeigt. Diese Reaction gelingt noch mit 0,3 mg Inosit.

193. Scyllit[4]) ist ein in Wasser schwer löslicher, in Alkohol unlöslicher, ohne Krystallwasser krystallisirender, süss schmeckender Körper, der in Leber, Kiemen, Milz, und besonders in den Nieren von Rochen und Haifischen von Staedeler und Frerichs gefunden ist. Seine Zusammensetzung ist unbekannt, die Scherer'sche Inositreaction giebt er nicht, wird aber durch basisch essigsaures Bleioxyd kleisterartig gefällt, durch Kochen mit Natronlauge nicht verändert, ebensowenig durch Salpetersäure; Kupferoxyd reducirt er nicht.

Aromatische Säuren.

Vorkommen. C_6H_5-COOH 194. **Benzoësäure $C_7H_6O_2$** tritt im frischen Harn nur nach reichlicher Zufuhr von Benzoësäure auf; sie findet sich im Harn zahlreicher Pflanzenfresser (Pferde, Wiederkäuer, Pachydermen, Nager), wenn derselbe einige Zeit gestanden hat, allmählich aus der Hippursäure durch bacterielle Zersetzung entstehend. Der menschliche Harn enthält auch nach mehrtägigem Stehen meist nur sehr geringe Mengen.

Darstellung. Man stellt sie dar durch vorsichtige Sublimation von Benzoëharz oder durch viertelstündiges Kochen von Hippursäure mit conc. Salzsäure.

Zur Isolirung aus Flüssigkeiten werden dieselben nach Zusatz von Natriumcarbonat eingedampft; den syrupartigen Rückstand extrahirt man zunächst zur Entfernung von Fett mit Aether, fügt dann Schwefelsäure hinzu und schüttelt wieder mehrmals mit Aether aus. Im Rückstand des

---

[1]) Vohl, Ber. d. d. chem. Ges. **9**. 984. (1876.), Hilger, Ann. Chem. Pharm. **160**. 333. (1871.)
[2]) Ebendas. **81**. 375. (1852.)
[3]) Dissert. Dorpat 1884.
[4]) Journ. f. prakt. Chem. **73**. 48. (1858.)

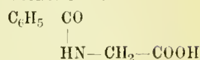
Aetherauszugs können neben der Benzoësäure Fettsäuren, Milchsäure, Hippursäure, Bernsteinsäure, Oxalsäure vorhanden sein. Durch Abspülen mit wenig kaltem Wasser lassen sich Milchsäure, Essigsäure und Buttersäure entfernen; durch Lösen in viel Wasser lässt sich die Benzoësäure von den höheren Fettsäuren, durch Lösen in Petroläther von der Hippursäure befreien. Von Bernsteinsäure und Oxalsäure trennt man sie durch die Unlöslichkeit des bernsteinsauren Kalks in Alkohol und des oxalsauren Kalks in Wasser.

Die Benzoësäure, besonders die sublimirte, bildet grosse, langgestreckte, dünne, biegsame, farblose Tafeln von rechteckiger Form. Bei der Ausfällung durch Säure aus den Lösungen der benzoësauren Salze erhält man meist sehr schlecht begrenzte Krystalle. Sie schmilzt bei 121,25° und siedet unzersetzt bei 250°. Die Dämpfe reizen die Schleimhäute. Sie löst sich leicht in Alkohol, Essigäther, Benzol, auch leicht in Aether, weniger leicht in Petroläther, schwer in kaltem (1 g in 370 ccm bei 18°), leichter in heissem Wasser. Beim Kochen ihrer wässerigen Lösungen verflüchtigt sie sich reichlich mit den Wasserdämpfen. Die Verbindungen mit Alkalien, Kalk und Magnesia sind in Wasser leicht löslich, die Silber-, Blei- und Quecksilberverbindungen fast unlöslich. Benzoësaures Ammoniak verliert an der Luft Ammoniak. Mit neutralem Eisenchlorid geben neutrale Lösungen benzoësaurer Salze voluminöse Niederschläge von benzoësaurem Eisen. Eigenschaften.

Kochen mit conc. Salzsäure greift die Säure nicht an, Kochen mit conc. Salpetersäure verwandelt sie in Nitrobenzoësäure. Mit Alkali oder Natronkalk stark erhitzt zersetzt sie sich zu Kohlensäure und Benzol. Kocht man Benzoësäure mit etwas starker Salpetersäure in einer Porzellanschale stark ein und erhitzt dann stärker, so tritt der Geruch nach Bittermandelöl (Nitrobenzol) auf (Lücke'sche Reaction). Zersetzungen.

Zum Nachweis der Benzoësäure dient ausser der Krystallform, der Sublimirbarkeit und den Löslichkeitsverhältnissen besonders die zuletzt angeführte Reaction. Nachweis.

195. **Hippursäure** $C_9H_9NO_3$ findet sich fast constant reichlich im frischen Harne von Pferden, Wiederkäuern, Pachydermen und anderen pflanzenfressenden Säugethieren, in geringer Menge im Harne von Menschen, auch oft bei reiner Fleischkost oder lange dauernder Inanition. Auch im Hundeharn ist sie in kleinen Mengen vorhanden, fehlt aber bei völligem Ausschluss der Darmfäulniss[1]). Im Harne von Schildkröten und mehreren Insectenarten ist sie gleichfalls gefunden, nie dagegen im Vogelharne. Sie tritt im Harne von Menschen, Hunden u. s. w. reichlich auf nach Einführung von Benzoësäure oder Zimmtsäure, Toluol, Bittermandelöl, Chinasäure, Phenylpropionsäure u. s. w., reichlicher auch nach Genuss von Beerenfrüchten. Nach Zufuhr von Benzoësäure ist Hippursäure in geringer Menge Vorkommen.



[1]) Baumann, Zeitschr. f. physiol. Chem. **10.** 123. (1886.)

im Schweisse gefunden, dagegen im Rinderblut vergeblich gesucht worden. Die ausgeschnittenen, noch lebenden Nieren vom Hunde bilden bei der künstlichen Durchströmung mit Blut, welches Benzoësäure und Glykocoll enthält, noch Hippursäure; bei Kaninchen können auch andere Organe diese Function erfüllen.

Darstellung. Synthetisch stellt man Hippursäure dar durch allmähliches Eintragen von trocknem Glykocoll in erhitztes Benzoësäureanhydrid und Erwärmen im Oelbade, bis die Masse sich roth färbt[1]) oder noch besser nach der von Baum[2]) angewendeten Methode: Man löst Glykocoll in wenig Wasser, fügt einige Tropfen Natronlauge hinzu, schüttelt mit Benzoylchlorid, das allmählich in Ueberschuss zugesetzt wird, und macht schliesslich mit Natronlauge stark alkalisch. Auf Zusatz von Salz- oder Schwefelsäure fällt ein Gemenge von Benzoësäure und Hippursäure aus, dem man durch Extraction mit Aether die Benzoësäure entzieht. Die zurückbleibende Hippursäure wird aus heissem Wasser umkrystallisirt. Zur Darstellung aus Pferde- oder Rinderharn dampft man den frischen Harn auf kleines Volumen ein und fügt nach dem Erkalten unter gutem Umrühren starke Salzsäure hinzu. Die auskrystallisirte Säure wird nach 24 Stunden abgesaugt, ausgewaschen und aus heissem Wasser umkrystallisirt. Um den Farbstoff zu entfernen, kann man sie in sehr verdünnter Natronlauge lösen, zum Sieden erhitzen, unterchlorigsaures Natron in kleinen Portionen bis zur Entfärbung hinzufügen und nach dem Erkalten durch Salzsäure wieder die Ausscheidung bewirken oder man kann in die heisse wässrige Lösung der freien Säure Chlor einleiten, bis die Flüssigkeit darnach riecht, schnell filtriren und die ausgeschiedene Säure unter Zusatz von Thierkohle mehrmals umkrystallisiren[3]).

Isolirung aus Menschenharn. Zur Isolirung der Hippursäure aus Menschenharn oder andern Harnen, die nur geringe Mengen enthalten, verdampft man die schwach alkalisch gemachte Flüssigkeit auf dem Wasserbade zum dicken Syrup, extrahirt mit Alkohol, dampft den alkoholischen Auszug ein, säuert ihn mit Salzsäure an und schüttelt wiederholt mit Essigaether aus. Die abgegossenen Essigaetherlösungen wäscht man mit kleinen Mengen Wasser oder Kochsalzlösung, verdunstet den Essigaether und erschöpft den Rückstand mit frisch destillirtem Petrolaether, welcher die Benzoësäure aufnimmt, die Hippursäure ungelöst lässt[4]).

Eigenschaften. Die Hippursäure scheidet sich beim langsamen Erkalten der heiss gesättigten Lösung meist in harten, zerbrechlichen, langen vierseitigen Prismen mit zwei oder vier Pyramidenflächen am Ende ab, die dem rhombischen System zugehören. Sie lösen sich in 600 Thl. Wasser von 0°, viel reich-

---

1) Curtius, Ber. d. d. chem. Ges. **17**. 1662. (1884.)
2) Zeitschr. f. physiol. Chemie. **9**. 465. (1885.)
3) Curtius, Journ. f. pract. Chem. N. F. **26**. 145. (1882.)
4) Schmiedeberg u. Bunge, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **6**. 233. (1877.)

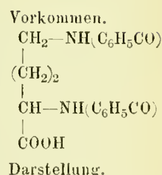
licher in heissem Wasser, leicht in Alkohol, wenig in Aether, besser in Essigäther, gar nicht in Petroläther, Benzol, Schwefelkohlenstoff. Trocken erhitzt schmilzt die Hippursäure bei 187°. Sie verflüchtigt sich nicht mit Wasserdämpfen.

Die hippursauren Salze sind meist in Wasser löslich, besonders leicht die Salze der Alkalien und alkalischen Erden. Hippursaures Silber löst sich in heissem Wasser und scheidet sich beim Erkalten in weissen, seideglänzenden Nadeln ab. Hippursaures Eisenoxyd ist ein hellbrauner Niederschlag, der in Wasser sehr schwer, in Harn leichter löslich ist. Bei gewöhnlicher Temperatur geben neutrale hippursaure Salze mit Eisenchlorid einen Niederschlag, der auf 1 Atom Eisen 2 Mol. Hippursäure enthält, beim Erhitzen der Flüssigkeit wird Hippursäure daraus frei und der Niederschlag enthält dann auf 1 Atom Eisen 1 Mol. Hippursäure. Salze.

Beim Erhitzen über ihren Schmelzpunkt färbt sich Hippursäure roth und zersetzt sich unter Bildung von Benzoësäure, welche sublimirt, Blausäure und Benzonitril, welche einen bittermandelartigen Geruch bewirken. Beim Kochen mit Wasser wird Hippursäure nicht verändert, aber beim Kochen mit starker Salzsäure, schneller beim Kochen mit starker Alkalilauge unter Wasseraufnahme in Glykocoll und Benzoësäure gespalten. Dieselbe Spaltung vollzieht sich beim Stehen und Faulen hippursäurehaltigen Harns oder nach Zusatz von faulenden Massen zu verdünnten wässerigen Lösungen hippursaurer Salze. Die Lücke'sche Reaction (siehe § 194) fällt auch mit der Hippursäure positiv aus. Zersetzungen.

Zum Nachweis der Hippursäure dienen die Krystallform, der Schmelzpunkt, das Verhalten beim Erhitzen über den Schmelzpunkt, die Löslichkeitsverhältnisse, sowie auch die Lücke'sche Reaction. Zur Erkennung sehr kleiner Mengen von Hippursäure empfiehlt K. Spiro[1]) die Lactimidprobe (Condensation der Hippursäure mit Benzaldehyd). Nachweis.

196. **Ornithursäure (Dibenzoylornithin)** $C_{19}H_{20}N_2O_4$. Diese von Jaffé[2]) entdeckte Säure ist in einer activen und einer inactiven Modifikation bekannt. Sie erscheint als d-Ornithursäure (an Stelle der Hippursäure) im Harn von Vögeln nach Eingabe von Benzoësäure (Jaffé). Vorkommen.



Zu ihrer synthetischen Darstellung schüttelt man eine wässrige Lösung von Ornithin mit Benzoylchlorid und Natronlauge, säuert mit Salzsäure an, filtrirt den entstandenen Niederschlag ab und löst ihn nach wiederholter Behandlung mit kochendem Wasser in heissem Alkohol. Beim Verdunsten der alkoholischen Lösung krystallisirt i-Ornithursäure heraus[3]). Ueber die complicirte Darstellung aus Harn siehe die Arbeit von Jaffé. Darstellung.

Die Säure krystallisirt ohne Krystallwasser in sehr kleinen, farblosen Eigenschaften.

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **28.** 174. (1899.)

2) Ber. d. d. chem. Ges. **10.** 1926. (1877) u. **11.** 406. (1878.)

3) E. Schulze u. Winterstein, Zeitschr. f. physiol. Chem. **26.** 1. (1898—1899.)

Nadeln, die sehr schwer löslich in heissem Wasser und in Aether so gut wie unlöslich sind. Sie lösen sich leichter in Essigäther, am leichtesten in heissem Alkohol, beim Erkalten sich grossentheils ausscheidend. Die Lösungen röthen Lacmus. Sm.-P. 184°. Beim stärkeren Erhitzen tritt Bittermandelgeruch und wolliges Sublimat, ähnlich wie beim Leucin auf. In nicht ganz reinem Zustande abgeschieden, bildet sie zunächst milchige Trübung, dann eine pflasterartige Masse, die allmählich krystallisirt; im reinen Zustande scheidet sie sich gleich krystallinisch aus. Ihre Verbindungen mit Alkalien sind in Wasser mit neutraler Reaction löslich. Das Barytsalz ist in Wasser und Alkohol leicht löslich, in Aether unlöslich. Das Kalksalz, welches beim Erhitzen der wässrigen Lösung von ornithursaurem Ammoniak mit Chlorcalcium sich krystallinisch abscheidet, ist in Wasser sehr schwer, in Alkohol und Aether unlöslich.

Optische Eigenschaften. Eine wässrige Lösung der activen Säure zeigt bei Gegenwart von etwas Alkali Rechtsdrehung und zwar $[\alpha]_D^{20^\circ} = +7{,}85^\circ$ (E. Fischer[1]).

Zersetzung. Beim Kochen mit starker Salzsäure zerfällt die Ornithursäure zunächst in Benzoësäure und Monobenzoylornithin und weiter in Benzoësäure und Ornithin.

Monobenzoylornithin. Das Monobenzoylornithin $C_5H_{11}N_2O_2 . C_6H_5CO$ bildet farblose, zarte, weiche Nadeln (das i-Monobenzoylornithin glänzende Blättchen[1]) vom Sm.-P. 225—230°, ist leicht löslich in Wasser, unlöslich in Aether, fast unlöslich in Alkohol, giebt mit Mineralsäuren leicht lösliche Salze, aus deren concentrirter Lösung fällbar durch Neutralisation oder Zusatz von essigsaurem Alkali.

$C_6H_5-CH_2$ | COOH $C_6H_5-CH_2$ | CH_2 | COOH

Vorkommen. 197. **Phenylessigsäure $C_8H_8O_2$, β-Phenylpropionsäure (Hydrozimmtsäure) $C_9H_{10}O_2$** wurden von E. und H. Salkowski[2]) als Producte der Eiweissfäulniss erhalten. Bei sehr langer Dauer der Fäulniss kann die Phenylessigsäure überwiegen, bei sehr kurzer Dauer vielleicht fehlen. Beide Säuren oder nur die Phenylpropionsäure haben sich auch bei der Zersetzung von Eiweiss und Leim durch anaërobe Bacterien (Rauschbrandbacillen, Bac. liquef. magnus[3]), bei der Fäulniss des Gehirns[4]) und im Panseninhalt des Rindes bei Heufütterung[5]) gefunden.

Darstellung. Synthetisch erhält man Phenylessigsäure am Besten nach Mann[6]) und Städel[7]) durch Kochen von Benzylchlorid mit alkoholischem Cyankalium und Verseifen des Cyanids mit wenig verdünnter Schwefelsäure, Phenylpropionsäure aus Zimmtsäure durch Einwirkung von Natriumamalgam.

Die Darstellung aus Fäulnissgemischen geschieht nach § 218.

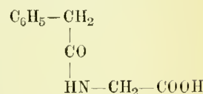
---

1) Ber. d. d. chem. Ges. **34.** 454. (1901.)
2) Ebendas. **12.** 107 u. 653. (1879.)
Zeitschr. f. physiol. Chem. **9.** 8 u. 491. (1876) u. **10.** 150. (1877.)
3) Nencki, Monatshefte f. Chem. **10.** 506 u. 908. (1889.)
4) Stöckly, Journ. f. pract. Chem. N. F. **24.** 17. (1881.)
5) Tappeiner, Zeitschr. f. Biol. **22.** 236. (1886.)
6) Ber. d. d. chem. Ges. **14.** 1645. (1881.) 7) Ebendas. **19.** 1949. (1886.)

Es ist nöthig, grössere Mengen von Eiweiss faulen zu lassen. Aus 2 Kilo Fleisch erhielten E. und H. Salkowski etwa 5—6 g eines Gemisches der beiden Säuren. Zur Trennung verreibt man die ölige Flüssigkeit mit Zinkoxyd und Wasser, kocht den Brei mit grossen Mengen Wasser aus und filtrirt heiss. Der Rückstand enthält das phenylpropionsaure Zink, das Filtrat, abgesehen von kleinen Mengen einer anders schmelzenden Substanz, welche sich beim Erkalten abscheidet, und von der man abfiltrirt, phenylessigsaures Zink. Dasselbe scheidet sich beim Eindampfen ab. Durch Zersetzen der Zinksalze mit Salzsäure gewinnt man die freien Säuren. Trennung von Phenylessigsäure und Phenylpropionsäure.

Die Phenylessigsäure krystallisirt in breiten Blättchen, schmilzt bei 76,5° und siedet bei 262°, die Phenylpropionsäure krystallisirt in langen, feinen Nadeln, schmilzt bei 48,7° und siedet bei 280°. Beide lösen sich reichlich in heissem Wasser, leicht in Alkohol oder Aether, wenig in kaltem Wasser. Beide werden durch Chromsäure zu Benzoësäure oxydirt und geben die Lücke'sche Reaction (§ 194). In den Körper eingeführte Phenylessigsäure erscheint im Harn als Phenacetursäure, in den Körper eingeführte Phenylpropionsäure als Hippursäure. Eigenschaften.

198. **Phenacetursäure** $C_{10}H_{11}NO_3$ findet sich nach E. u. H. Salkowski[1]), welche sie entdeckten, im normalen Pferdeharn und wahrscheinlich gelegentlich auch im normalen Menschenharn. In den Körper von Hunden und Kaninchen eingeführte Phenylessigsäure erscheint im Harn als Phenacetursäure. Vorkommen.



Synthetisch wurde sie durch Einwirkung von Glykocoll in alkalischer Lösung auf Phenylessigsäurechlorid erhalten[2]). Um sie aus Pferdeharn zu gewinnen, dampft man nach Salkowski 1 Liter auf 200 ccm ein, extrahirt den Rückstand mit Alkohol, verdunstet den Auszug, löst den Rückstand in Wasser und fällt die Lösung mit starker Salzsäure. Nachdem die nach einiger Zeit ausgeschiedene Hippursäure abfiltrirt ist, wird die Lösung mit Aether geschüttelt, der Aetherauszug mit Sodalösung und diese nach Ansäuern mit Salzsäure wieder mit Aether. Den beim Abdestilliren des Aethers bleibenden Rückstand erhitzt man mit 50 bis 80 ccm Wasser zum Sieden, filtrirt nach 24 stündigem Stehen und dampft das Filtrat auf ca. 15 ccm ein. Beim Erkalten krystallisirt in der Regel Phenacetursäure ziemlich rein aus. Darstellung.

Sie krystallisirt aus heissem Wasser in dünnen, dicht aufeinanderliegenden Blättchen, bei langsamer Abscheidung in derben, anscheinend rechtwinkligen Prismen mit zwei Pyramidenflächen, aus Alkohol und Essigäther nach Hotter in würfelähnlichen Krystallen. Sie ist in Wasser schwer löslich, aber leichter als Hippursäure, leicht löslich in Alkohol und Essig- Eigenschaften.

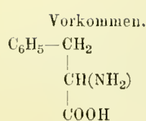
---

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. **12**. 653. (1879.)
Zeitschr. f. physiol. Chem. **9**. 229. (1885.)

[2]) Hotter, Ber. d. d. chem. Ges. **20**. 81. (1887.)
Journ. f. prakt. Chem. N. F. **38**. 97 u. 117. (1888.)

äther, sehr schwer in Aether. Sm.-P. 143°. Durch Kochen mit Salzsäure wird sie in Glykocoll und Phenylessigsäure gespalten.

Vorkommen.



199. **Phenylalanin (Phenyl-α-aminopropionsäure)** $C_9H_{11}NO_2$ existirt in der l-, d- und i-Modification. Es entsteht bei der Säurespaltung der Eiweisssubstanz der Kürbissamen (E. Schulze[1]), des Caseïns, Eieralbumins, Fibroïns und Leims (E. Fischer[2]) und anderer Eiweissstoffe, auch beim Kochen des Conglutins mit Aetzbaryt[1]). Es wurde zuerst von E. Schulze und Barbieri[3]) in etiolirten Lupinenkeimlingen gefunden. Das natürlich vorkommende und das durch Säurespaltung gewonnene ist l-Phenylalanin; aus Leim wurde durch Säurespaltung d-Phenylalanin erhalten.

Darstellung.

Die synthetisch[4]) dargestellte Säure ist i-Phenylalanin. i-Benzoylphenylalanin (am besten nach Erlenmeyer[5]) gewonnen) lässt sich mit Hülfe des Cinchoninsalzes in die activen Componenten zerlegen, von denen die d-Verbindung rein erhalten werden kann. Aus ihr gewinnt man durch Erhitzen mit Salzsäure d-Phenylalanin[6]). Die activen Säuren werden durch 24 stündiges Erhitzen mit Barytwasser auf 160° racemisirt. Ueber die Darstellung aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteïnkörper siehe § 156.

Eigenschaften.

l-Phenylalanin krystallisirt aus conc., noch warmen, wässrigen Lösungen in kleinen, glänzenden Blättchen, aus verdünnten in feinen Nadeln mit Krystallwasser (Sm.-P. 275—280°), i-Phenylalanin in kurzen, sternförmig verwachsenen, wasserfreien Prismen (Sm.-P. 263—265°). Die Krystalle lösen sich ziemlich schwer (die i-Verbindung noch schwerer) in kaltem, leicht in heissem Wasser, wenig in verdünntem Alkohol. 5 proc. wässrige Lösungen von l-Phenylalanin werden bei Gegenwart von Salz- oder Schwefelsäure zum Unterschied von andern Aminosäuren durch Phosphorwolframsäure gefällt[7]), sehr verdünnte Lösungen werden nicht gefällt. Aus der conc. wässrigen Lösung scheidet sich beim Einleiten von Salzsäuregas salzsaures Phenylalanin ab. Sättigt man die heisse wässrige Lösung mit Kupferoxydhydrat oder fügt man Kupferacetatlösung hinzu, so scheidet sich sofort das Kupfersalz in blassblauen Krystallschuppen ab u. z. l-Phenylalaninkupfer wasserfrei, i-Phenylalaninkupfer mit 2 Mol. Wasser, die aber schon über Schwefelsäure entweichen. In salzsaurer Lösung wird Phenylalanin durch Natriumnitrit in Phenylchloressigsäure übergeführt[8]).

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **9.** 63. (1885.)
2) Ebendas. **33.** 151, 177 u. 412. (1901.) u. **35.** 70. (1902.)
3) Ber. d. d. chem. Ges. **14.** 1785. (1881.)
Zeitschr. f. physiol. Chem. **12.** 405. (1888.)
4) Erlenmeyer u. Lipp, Ber. d. d. chem. Ges. **15.** 1006. (1882.)
5) Ann. Chem. Pharm. **275.** 13. (1893.)
6) E. Fischer u. Mouneyrat, Ber. d. d. chem. Ges. **33.** 2383. (1900.)
7) E. Schulze und Winterstein, Zeitschr. f. physiol. Chem. **33.** 574. (1901.)
8) Jochem, Ebendas. **31.** 119. (1900—1901.)

Der Aethylester der i-Säure[1]) (über seine Darstellung siehe § 151) ist ein dickflüssiges, in Wasser schwer lösliches Oel, das unter 10 mm Druck bei 143° siedet und ein in flachen Prismen krystallisirendes Pikrat (Sm.P. 154°) bildet. Durch mehrstündiges Erhitzen mit Barytwasser auf dem Wasserbade wird der Ester verseift. Die Phenylisocyanatverbindung (§ 156, 4) des Phenylalanins (E. Fischer und Mouneyrat) krystallisirt in feinen Nadeln, die in kaltem Wasser fast unlöslich, in heissem Alkohol leicht löslich sind und bei 180—181° (corr.) schmelzen. Aethylester. Phenylisocyanatverbindung.

In 2 bis 3 proc. Lösungen zeigt l-Phenylalanin $[\alpha]_D = -35{,}3^0$ (E. Schulze), d-Phenylalanin $[\alpha]_D^{16^0} = +35{,}08^0$. In 3,5 proc. Lösung, die 18 pCt. Salzsäure enthält, zeigt d-Phenylalanin $[\alpha]_D^{20^0} = +7{,}07^0$ (E. Fischer und Mouneyrat). Optische Eigenschaften.

Bei der Fäulniss entsteht Phenylessigsäure und wahrscheinlich auch Phenylpropionsäure. Beim Erhitzen zersetzt sich Phenylalanin in Kohlensäure, Phenylaethylamin und Phenyllactimid, beim Erhitzen mit Kaliumbichromat und Schwefelsäure tritt der Geruch nach Phenylacetaldehyd auf (scharfe, bequeme Methode des Nachweises), dann bildet sich Benzoësäure. Zersetzungen.

Zum Nachweis ist die zuletzt erwähnte Reaction sehr geeignet. 0,02 g in 2—3 ccm 25 proc. Schwefelsäure gelöst und mit ein paar Körnchen Bichromat versetzt, geben beim Kochen sehr deutlichen Geruch nach Phenylacetaldehyd (E. Fischer). Auch die Phenylisocyanatverbindung ist für die Identifizirung geeignet. Nachweis.

200. **Phenylaethylamin $C_8H_{11}N$***). Eine Base dieser Zusammensetzung isolirte Nencki aus Leimfäulniss (§ 172, 4). Seine Vermuthung, dass es sich um Phenylaethylamin handele, ist von Spiro[2]) bestätigt worden. Es entsteht unzweifelhaft secundär aus Phenylalanin durch Kohlensäureabspaltung. Synthetisch erhält man es aus Benzylcyanid. $C_6H_5-CH_2$ | $CH_2(NH_2)$

Es ist ein in Wasser ziemlich leicht lösliches Oel, das bei 197—198° siedet, zieht Kohlensäure aus der Luft an und erstarrt zu blättrigem Carbonat. Das salzsaure Salz ist auch in abs. Alkohol löslich, das Platindoppelsalz in kaltem Wasser schwer, in heissem leicht löslich. Das Pikrat krystallisirt aus Alkohol in tetragonalen Prismen vom Sm.-P. 171—174° (corr.). Die in Wasser unlösliche Benzoylverbindung schmilzt bei 114°. Eigenschaften.

201. **p-Oxyphenylessigsäure $C_8H_8O_3$.** p-Oxyphenylessigsäure ist von E. und H. Salkowski[3]) unter den Fäulnissproducten der Wolle und Eiweissstoffe aufgefunden, von Baumann[4]) als Fäulnissproduct des Tyrosins erkannt und in geringer Menge aus dem normalen Harn von Menschen und Thieren, reichlicher aus pathologischen Harnen, aus Harnen bei Phosphor- Vorkommen. $C_6H_4 \begin{matrix} OH\,(1) \\ CH_2-COOH\,(4) \end{matrix}$

*) Diese Base und Oxyphenylaethylamin (§ 206) sind wegen ihrer nahen Beziehungen zum Phenylalanin bezw. Tyrosin in diesem Kapitel besprochen.

1) E. Fischer, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. **34**. 433. (1901.)

2) Beitr. z. chem. Phys. u. Path. **1**. 349. (1902.)

3) Ber. d. d. chem. Ges. **12**. 648. (1879.)

4) Ebendas. **12**. 1450. (1879.) u. **13**. 279. (1880.) Zeitschr. f. physiol. Chem. **4**. 304. (1880.)

vergiftung und nach Fütterung von Tyrosin gewonnen worden[1]). Sie ist im Harn grösstentheils nicht an Schwefelsäure gebunden und verschwindet bei fehlender Darmfäulniss nicht vollständig aus ihm (Baumann[2]).

Darstellung. H. Salkowski[3]) stellte sie aus Phenylessigsäure dar, aus p-Amidophenylessigsäure erhält man sie durch Einwirkung von salpetriger Säure. Ueber die Darstellung aus Harn siehe den folgenden Paragraphen, aus Fäulnissgemischen siehe § 218.

Eigenschaften. Die Säure krystallisirt aus der wässerigen Lösung in prismatischen, meist flachen, sehr spröden Nadeln, schmilzt bei 148° und verflüchtigt sich beim stärkeren Erhitzen zum Theil unzersetzt. Sie ist in kaltem Wasser ziemlich leicht löslich, weniger in salzsäurehaltigem, leicht in heissem Wasser, Alkohol, Aether, schwer in Benzol. Ihre wässerige Lösung giebt mit Eisenchlorid zunächst wenig intensive, grauviolette, dann schmutzig graugrüne Färbung, mit Millon's Reagens in der Wärme Rothfärbung. Kupfersulfat, Zink- oder Cadmiumsulfat erzeugen in den wässerigen Lösungen der Ammoniakverbindung der Säure Niederschläge, ebenso bewirkt Silbernitrat einen in kochendem Wasser löslichen, voluminösen Niederschlag des neutralen Silbersalzes. Durch Bleiacetat werden sehr verdünnte neutrale Lösungen nicht gefällt, concentrirte Lösungen geben krystallinischen Niederschlag, welcher sich im Ueberschuss des Fällungsmittels löst und beim Stehen allmählich wieder ausscheidet (characteristisches Verhalten). Das Kalksalz, durch Kochen der Säure mit Calciumcarbonat erhalten, krystallisirt aus conc. Lösung in tafelförmigen Krystallen $(C_8H_7O_3)_2Ca + 4H_2O$.

Oxyphenacetursäure wurde einmal von E. und H. Salkowski[4]) aus Hundeharn nach Eingabe von p-Oxyphenylessigsäure erhalten. Flache Krystallwarzen, ziemlich leicht in heissem Wasser, schwer in Aether löslich. Sm.-P. 153°. Sie zerfällt mit Salzsäure gekockt in Glykocoll und p-Oxyphenylessigsäure.

Vorkommen. $C_6H_4\langle^{OH\,(1)}_{CH_2-CH_2-COOH\,(4)}$

202. **Hydro-p-cumarsäure (p-Oxyphenylpropionsäure) $C_9H_{10}O_3$.** Die Hydro-p-cumarsäure wurde von Baumann (Citat 4 S. 229) als nächstes Reductionsproduct des Tyrosins bei der Fäulniss und als Bestandtheil des menschlichen Harns erkannt; sie findet sich unter den Fäulnissproducten der Eiweissstoffe neben der p-Oxyphenylessigsäure in verschiedenen Quantitäten, da sie selbst durch Fäulniss bei Luftzutritt weiter zerfällt.

Isolirung von p-Oxyphenylessigsäure und Hydro-p-cumarsäure. Zur Isolirung der p-Oxyphenylessigsäure und der Hydro-p-cumarsäure aus Harn verfährt man nach Baumann[5]) folgendermaassen: Etwa 50 Liter frischer, normaler, menschlicher Harn werden zum dünnen Syrup verdunstet, mit Essigsäure stark angesäuert und mit Aether extrahirt. Die Aetherauszüge werden mit überschüssiger Sodalösung wiederholt geschüttelt und die vereinigten wässerigen alkalischen Lösungen von Neuem angesäuert

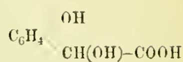
---

[1]) Blendermann, Ebendas. **6.** 247. (1882.) [2]) Ebendas. **10.** 125. (1886.)
[3]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. **12.** 1438. (1879.)
[4]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **7.** 171. (1883.) [5]) Ebendas **6.** 191. (1881.)

und mit Aether ausgeschüttelt. Der Aetherauszug wird nach Abdestilliren des Aethers auf dem Wasserbade erwärmt bis die Essigsäure zum grössten Theile verjagt ist, in wenig Wasser gelöst und die Lösung mit neutralem Bleiacetat versetzt, so lange ein Niederschlag entsteht. Aus dem Filtrat dieses Niederschlags fällt man durch basisches Bleiacetat die Oxysäuren, zertheilt den ausgewaschenen und abgepressten Niederschlag in Wasser, zerlegt ihn mit Schwefelwasserstoff und schüttelt die Lösung von Neuem mit Aether aus. Nach dem Verdunsten dieser Aetherauszüge hinterbleibt ein stark saurer, gelber Syrup, der meist nach einiger Zeit krystallinisch erstarrt. Tritt auch nach längerem Stehen keine Krystallisation ein, so ist es zweckmässig, den Syrup in Wasser zu lösen, mit kohlensaurem Baryt zu kochen und aus der Lösung der Barytsalze die Säuren von Neuem abzuscheiden. Die aus dem Menschenharne auf diese Weise dargestellten Oxysäuren erstarren stets nach einigen Tagen krystallinisch; viel langsamer und schwieriger erfolgt die Krystallisation der Oxysäuren aus dem Hunde- und Pferdeharn. Die zum Krystallbrei erstarrte Masse wird zwischen Papier möglichst abgepresst und aus wenig Wasser umkrystallisirt. Die p-Oxyphenylessigsäure krystallisirt dabei in langen, durchsichtigen Prismen und lässt sich durch einmaliges Umkrystallisiren aus viel Benzol völlig rein erhalten. Aus der eingedampften Mutterlauge wird durch Kochen mit einer zur völligen Lösung unzureichenden Menge Benzol die Hydro-p-cumarsäure aufgenommen, welche beim Erkalten noch gemengt mit p-Oxyphenylessigsäure krystallisirt. Eine Methode der Trennung beider Säuren ist bis jetzt nicht bekannt. Ueber die Darstellung der Säure aus Fäulnissgemischen siehe § 218.

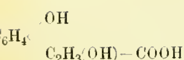
Durch Verdunsten ihrer ätherischen Lösung gewonnen, bildet die p-Oxyphenylpropionsäure ein Oel, welches bald zur strahligen Krystallmasse erstarrt, aus wenig Wasser umkrystallisirt erscheint sie in farblosen, wasserfreien, monoklinen, in Wasser, Alkohol oder Aether leicht löslichen, bei 125° schmelzenden Krystallen. In Wasser ist sie etwas leichter löslich als die p-Oxyphenylessigsäure, in Benzol löst sie sich schwer, aber auch leichter als die p-Oxyphenylessigsäure. Ihre wässerige Lösung giebt ebenfalls beim Erwärmen mit Millon's Reagens Rothfärbung. Aus verdünnter wässeriger Lösung wird sie nicht durch neutrales, aber durch basisches Bleiacetat ausgefällt. Eigenschaften.

203. **Oxymandelsäure $C_8H_8O_4$.** Schultzen und Ries[1]) fanden in mehreren Fällen von acuter Leberatrophie im Harn neben Tyrosin eine Säure, die sich dem angesäuerten Harn durch Ausschütteln mit Aether entziehen liess. Sie war durch basisches, nicht durch neutrales Bleiacetat fällbar, in Wasser schwerer löslich als p-Oxyphenylessig- und -propionsäure, schmolz bei 162° und wurde ihrer Zusammensetzung entsprechend Oxymandelsäure genannt. Baumann[2]) erhielt aus Harn bei Phosphorver-



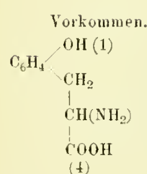
[1]) Ueber acute Phosphorvergiftung und Leberatrophie. Berlin 1869.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 6. 192. (1882.)

giftung eine Säure, deren Trennung von p-Oxyphenylessig- und -propionsäure durch ihre Unlöslichkeit in heissem Benzol gelang. Diese Säure, welche die Millon'sche Reaction gab, nadelförmige Krystalle vom Sm.-P. 167—168° bildete und sich beim raschen Erhitzen unter Abspaltung von Phenol zersetzte, war wahrscheinlich auch Oxymandelsäure oder eine ihr sehr ähnliche.



204. **Oxyhydro-p-cumarsäure** $C_9H_{10}O_4$ wurde von Blendermann[1]) aus dem eingedampften und angesäuerten Harn von Kaninchen, die Tyrosin erhalten hatten, durch Ausschütteln mit Aether erhalten. In den Aetherauszug gingen ausserdem noch Oxysäuren und eine als Tyrosinhydantoïn bezeichnete Substanz (siehe den folgenden Paragraphen) über. Die Säure krystallisirte in centimeterlangen, seidenglänzenden Nadeln mit $^1/_2$ Mol. Krystallwasser und schmolz unter Braunfärbung bei 162—164°. Die Krystalle verwitterten über Schwefelsäure und verloren bei 105—110° das Krystallwasser. Die Säure gab die Millon'sche Reaction und mit Bromwasser Trübung und geballten, amorphen Niederschlag. Sie zeigte dieselben Eigenschaften, wie sie Schultzen und Ries für die Oxymandelsäure angeben, unterschied sich von ihr nur durch einen Mehrgehalt von CH_2, so dass man sie wohl als Oxyhydro-p-cumarsäure bezeichnen kann.

Vorkommen.



205. **Tyrosin (p-Oxyphenyl-α-aminopropionsäure)** $C_9H_{11}NO_3$ existirt in der l-, d- und i-Modification. Es entsteht regelmässig bei der Spaltung von Eiweiss- und Hornsubstanzen durch Kochen mit Säuren, Alkalien oder Baryt, durch Trypsin und durch Fäulnissbacterien, ferner bei der Autolyse von Leber, Lunge und anderen Organen. Es findet sich im Dünn- und Dickdarm während der Verdauung von Eiweissstoffen, im menschlichen Harn bei acuter Leberatrophie und bei vorgeschrittener Phosphorvergiftung; bei letzterer Krankheit wurde es auch oft aus der Leber erhalten. Aus dem Harn mit Phosphor vergifteter Hunde ist es nicht gewonnen worden. Fast immer ist Leucin sein Begleiter. Nach Eingabe von Tyrosinschwefelsäure erscheint es im Harn wahrscheinlich an Schwefelsäure gebunden (Schotten[2]). Auch in Keimpflanzen (E. Schulze[3]) und in der Rübenmelasse (v. Lippmann[4]) ist Tyrosin gefunden worden. Das natürlich vorkommende und das durch Spaltung der Proteïnkörper erhaltene ist meist l-Tyrosin; wird die Spaltung durch Aetzbaryt vorgenommen, so entsteht i-Tyrosin; v. Lippmann erhielt aus Rübenschösslingen d-Tyrosin.

Darstellung. Synthetisch gewinnt man es nach Erlenmeyer und Lipp[5]) durch Einwirkung von salpetriger Säure auf p-Amidophenylalanin oder nach Erlenmeyer und Halsey[6]) in der Weise, dass die durch Condensation von p-Oxybenzaldehyd und Hippursäure entstehende p-Hydroxy-α-Benzoylamidozimmtsäure durch Reduction mit Natriumamalgam in Benzoyltyrosin und dieses durch Spaltung mit Salzsäure in Tyrosin übergeführt wird. Es ist die inactive Form. Man erhält die activen Modificationen, wenn man das i-Benzoyltyrosin mit Hülfe von Brucin resp. Cinchonin in l- und d-Benzoyltyrosin überführt und diese durch Kochen mit Salzsäure spaltet (E. Fischer).

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **6**. 256. (1882.)
[2]) Ebendas. **7**. 32. (1883.)
[3]) Ebendas. **24**. 49. (1898.)
[4]) Ber. d. d. chem. Ges. **17**. 2835. (1884.)
[5]) Ebendas. **15** 1514. (1882.)
[6]) Ebendas. **30**. 2981. (1897.) vergl. E. Fischer, Ebendas. **32**. 3638. (1899.)

Für die Darstellung[1]) eignen sich am Besten Hornspähne. Man kocht 500 g mit 1250 g conc. Schwefelsäure und 3 Litern Wasser 24 Stunden am Rückflusskühler, filtrirt, fügt Kalkmilch bis zur schwach alkalischen Reaction hinzu, filtrirt, kocht den Rückstand mit Wasser aus, entfernt aus den vereinigten Filtraten den gelösten Kalk in der Wärme mit Oxalsäure, filtrirt und dampft bis zur beginnenden Krystallisation ein. Nach dem Erkalten wird filtrirt, die Krystallmasse in kochendem Wasser unter Zusatz von etwas Ammoniak gelöst, und die heisse Lösung so lange mit Bleiessig unter Umrühren versetzt, bis der entstehende Niederschlag nicht mehr bräunlich, sondern weiss ausfällt. Man filtrirt, erhitzt nahezu zum Sieden, fällt mit verdünnter Schwefelsäure das Blei aus, filtrirt schnell und lässt erkalten. Das sich abscheidende Tyrosin wird aus heissem, ammoniakhaltigem Alkohol umkrystallisirt. Vergl. ferner das § 155 beschriebene Verfahren. Darstellung aus Horn.

Um Tyrosin aus Harn und anderen Flüssigkeiten zu isoliren, wird zur Abscheidung etwa vorhandener Eiweissstoffe mit Essigsäure angesäuert, zum Kochen erhitzt und filtrirt, dann zuerst mit neutralem, darauf mit basischem Bleiacetat gefällt, solange Niederschlag entsteht, filtrirt, durch Schwefelwasserstoff das Blei aus dem Filtrat entfernt und die filtrirte Flüssigkeit zum Syrup eingedampft. Ist Tyrosin reichlich vorhanden, so scheidet es sich allmählich krystallinisch ab. Isolirung aus Harn u. Flüssigkeiten.

Das reine l-Tyrosin bildet mikroskopische, farblose, seidenglänzende, feine, zu Büscheln vereinigte Nadeln (das i-Tyrosin kürzere, häufig sternförmig gruppirte Nädelchen) ohne Geruch und Geschmack, die sich beim Erhitzen unter Geruch nach verbranntem Horn zersetzen. Schnell erhitzt zersetzt es sich unter lebhafter Gasentwickelung bei 310—314° (das i-Tyrosin 2—3° höher). Es ist schwer löslich in kaltem Wasser (1 Thl. in etwa 2000 Thl., das i-Tyrosin 1 Thl. in etwa 3000—3500 Thl.), leichter löslich in heissem Wasser, unlöslich in abs. Alkohol oder Aether. In Ammoniak, Alkalien, auch in kohlensauren Alkalien löst es sich leicht, ebenso in verdünnten Mineralsäuren, schwer in Essigsäure. In starker Salzsäure ist das i-Tyrosin weniger löslich als das l-Tyrosin Durch Phosphorwolframsäure wird es auch aus 5 proc. Lösungen nicht gefällt. Tyrosinkupfer $(C_9H_{10}NO_3)_2Cu$, durch Kochen einer wässerigen Tyrosinlösung mit Kupferoxydhydrat erhalten, krystallisirt in blauen Prismen, zerfällt aber beim Kochen mit Wasser. Wird Tyrosin in ziemlich starker Salpetersäure gelöst, so scheidet sich nach einiger Zeit ein gelbes Krystallpulver von salpetersaurem Nitrotyrosin aus. Eigenschaften.

Beim Schütteln von Tyrosin mit einer wässerigen Lösung von Natriumbicarbonat und Benzoylchlorid entsteht Dibenzoyltyrosin[2]). Zur Darstellung Benzoylverbindung.

---

[1]) Hlasiwetz u. Habermann, Ann. Chem. Pharm. **169**. 160. (1873.)

[2]) E. Fischer, Ber. d. d. chem. Ges. **32**. 2454. Anmkg. (1899.)
A. Schultze, Zeitschr. f. physiol. Chem. **29**. 467. (1900.)

Aethylester. des l-Tyrosinäthylesters[1]) übergiesst man 5 g Tyrosin mit 35 ccm Alkohol, leitet Salzsäure ein bis zur Lösung, fügt das doppelte Vol. Alkohol hinzu, kocht mehrere Stunden am Rückflusskühler und destillirt den Alkohol unter schwachem Druck ab. Der Rückstand wird mit Wasser verdünnt, die Lösung mit überschüssigem Kaliumcarbonat versetzt und mit Essigäther ausgeschüttelt. Beim Verdunsten krystallisirt der Ester aus. Farblose, flache Prismen vom Sm.-P. 108 bis 109°, in kaltem Wasser sehr schwer, in heissem etwas leichter löslich, in Alkohol sehr leicht, in Aether schwer löslich.

Optische Eigenschaften. Für die specifische Drehung verschiedener Präparate von l-Tyrosin in 21 proc. Salzsäure gelöst bei annähernd gleicher Concentration (3,9 bis 5 pCt.) wurden folgende Werthe gefunden: thierischen Ursprungs $[\alpha]_D = -7,98^0$ (Mauthner[2]), aus Conglutin durch Spaltung mit Salzsäure gewonnen $[\alpha]_D = -8,48^0$ (E. Schulze[3]), aus Rübenmelasse $[\alpha]_D = -8,07^0$ (Landolt[4]), synthetisch $[\alpha]_D = -8,64^0$ (E. Fischer[5]). Mit abnehmendem Salzsäuregehalt wächst das Drehungsvermögen. Für Tyrosin in 11,6 proc. Kalilauge gelöst fand Mauthner bei einer Concentration von 5,8 pCt. $[\alpha]_D = -9,01^0$ (mit steigender Concentration der Lösung abnehmend). Das synthetische d-Tyrosin, ebenfalls in 21 proc. Salzsäure gelöst und bei einer Concentration von 4,6 pCt. $[\alpha]_D = +8,64^0$ (E. Fischer).

Zersetzungen. Beim Schmelzen mit Kali entsteht aus Tyrosin p-Oxybenzoësäure und durch Fäulnissbacterien wird es in Hydro-p-cumarsäure, in p-Oxyphenylessigsäure und schliesslich in p-Kresol verwandelt; bei Zutritt von Sauerstoff bilden sich aus dem Kresol wechselnde Mengen von Phenol. Diese Fäulnissprocesse verlaufen natürlich auch im Darm und besonders umfangreich nach Tyrosinzufuhr[6]).

Nachweis. Zum Nachweis des isolirten Tyrosins dienen ausser dem charakteristischen mikroskopischen Bilde folgende Reactionen:

1. Beim Erwärmen einer Tyrosinlösung mit Millon's Reagens zeigt sich bald Rothfärbung und event. nach einiger Zeit rother Niederschlag.

2. Piria's Probe. Man erwärmt trocknes Tyrosin mit etwas conc. Schwefelsäure eine halbe Stunde im Wasserbad, verdünnt die erkaltete Lösung mit Wasser, neutralisirt mit Barium- oder Calciumcarbonat, filtrirt

---

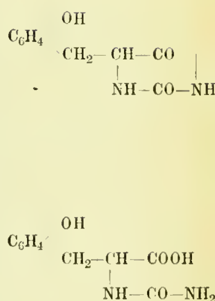
1) E. Fischer, Ber. d. d. chem. Ges. **34**. 433. (1901.)
2) Monatshefte f. Chemie. **3**. 343. (1882.)
3) Zeitschr. f. physiol. Chem. **9**. 63. (1885.)
4) Ber. d. d. chem. Ges. **17**. 2838. (1884.) 5) Ebendas. **32**. 3638. (1899.)
6) Baumann, Zeitschr. f. physiol. Chem. **1**. 60. (1877—1878.), **3**. 250. (1879.), **4**. 304. (1880.)
Baumann u. Herter, Ebendas. **1**. 244. (1877—1878.)
Weyl, Ebendas. **3**. 312. (1879.) Brieger, Ebendas. **3**. 134. (1879.)
Baumann u. Brieger, Ebendas. **3**. 149. (1879.)
Blendermann, Ebendas. **6**. 234. (1882.)
Baumann, Ber. d. d. deutsch. chem. Ges. **12**. 1450. (1879.)

und engt ein. Die Flüssigkeit färbt sich wegen ihres Gehaltes an Tyrosinsulfosäure mit wenig Eisenchlorid violett.

3. Denigès' Probe[1]). Setzt man ein wenig Tyrosin zu 2—3 ccm einer Lösung von 1 ccm Formaldehyd in 50 ccm conc. Schwefelsäure, so tritt nach kurzer Zeit weinrothe Färbung ein. Fügt man jetzt sofort das doppelte Vol. Eisessig hinzu und kocht, so färbt sich die Flüssigkeit grün.

4. Wurster's Proben[2]). Eine siedende wässerige Tyrosinlösung färbt sich a) mit 1 proc. Essigsäure und dann tropfenweise unter fortgesetztem Kochen mit 1 proc. Natriumnitritlösung versetzt schön roth, b) mit etwas trocknem Chinon rubinroth.

Ist die Isolirung des Tyrosins in Krystallen aus Harn oder Flüssigkeiten in der oben angegebenen Weise nicht gelungen, giebt der erhaltene Syrup aber die Millon'sche Reaction, so verdünnt man ihn mit Wasser, säuert mit Salzsäure stark an, kocht eine halbe Stunde zur Entfernung von Phenolen, schüttelt nach dem Erkalten mehrmals mit Aether aus zur Entfernung aromatischer Oxysäuren und wiederholt die Prüfung mit Millon's Reagens. Bleibt jetzt diese Reaction aus, so ist kein Tyrosin vorhanden, tritt sie aber ein, so kann sie von Tyrosin herrühren, aber beweisend ist dies nicht. Man kann dann mit Bleioxydhydrat das Chlor entfernen, aus dem Filtrat mit Schwefelwasserstoff das gelöste Blei abscheiden, filtriren, eindampfen und sich abscheidende Krystallnadeln oder Körner mit der Piria'schen Reaction auf Tyrosin prüfen. Das Ausbleiben der Krystallabscheidung beweist noch nicht die Abwesenheit von Tyrosin, denn Blendermann gelang es nicht, aus 600 ccm Harn, dem 0,2 g Tyrosin zugesetzt war, Tyrosin wieder abzuscheiden.



Ein Hydantoïn des Tyrosins $C_{10}H_{10}N_2O_3$ stellte Blendermann[3]) aus dem Harne von Kaninchen dar, denen reichliche Quantitäten von Tyrosin beigebracht waren. Dasselbe geht mit den Oxysäuren in den Aetherauszug über, krystallisirt leicht aus, ist schwer löslich in Wasser, Alkohol, Aether, etwas leichter in heissem Wasser, noch leichter in Ammoniak. Aus ammoniakalischer Lösung wird es durch Salzsäure als weisses, krystallinisches Pulver gefällt. Die Krystalle bräunen sich bei 270°, schmelzen unter Zersetzung bei 275—280°, geben starke Rothfärbung mit Millon's Reagens und zersetzen sich mit Barytwasser im zugeschmolzenen Rohr zu Kohlensäure, Ammoniak und Tyrosin. Jaffé erhielt durch Einwirkung von cyansaurem Kali auf Tyrosin Tyrosinhydantoïnsäure[4]).

Ein Derivat des Tyrosins von der Zusammensetzung $C_{21}H_{26}N_2O_8$ wurde von Danilewski[5]) durch Einwirkung von sehr wenig Pancreasferment auf Eiweissstoffe bei gewöhnlicher Temperatur und ziemlich neutraler Reaction innerhalb 2—5 Tagen, noch ehe Indol nachgewiesen werden konnte, erhalten. Nach dem Eindampfen der filtrirten Flüssigkeit und Zusatz von Alkohol schied sich dasselbe in Körnern und Krusten aus. Es wurde mit 30 proc. Alkohol gewaschen, aus heissem verdünnten Alkohol oder heissem Wasser umkrystallisirt; es bildet kreidige Massen, die aus mikroskopischen Prismen oder

---

[1]) Compt. rend. **130**. 583. (1900.) [2]) Centralbl. f. Physiol. **1**. 193. (1888.)
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **6**. 253. (1882.) [4]) Ebendas. **7**. 306. (1883.)
[5]) Ber. d. d. chem. Ges. **13**. 2132. (1880.)

tyrosinähnlichen Nadeln bestehen, giebt die Farbenreactionen des Tyrosins, soll aber ausserdem die Scherer'sche Inositreaction (§ 192) geben.

Vorkommen. $C_6H_4 \langle {OH \atop CH_2-CH_2(NH_2)}$

206. **p-Oxyphenyläthylamin** $C_8H_{11}NO$ (vergl. S. 229 Anm.) entsteht aus dem Tyrosin neben Kohlensäure sowohl durch Erhitzen auf 270° (Schmitt u. Nasse[1]) als auch durch anhaltende tryptische und peptische Verdauung (Emerson[2]), Langstein[3]).

Darstellung. Um es aus der tryptischen Verdauungsflüssigkeit zu erhalten, wird dieselbe durch Kochen nach Essigsäurezusatz von den coagulablen Eiweissstoffen befreit, nach Neutralisation mit Bariumcarbonat stark eingeengt und mit Alkohol so oft ausgeschüttelt, bis derselbe sich nicht mehr färbt. Die vereinigten Alkoholauszüge dampft man ein und schüttelt den Syrup mit Aceton aus u. z. ebenfalls so oft, bis derselbe sich nicht mehr färbt, dampft alle Acetonauszüge ein, nimmt den Rückstand nochmals mit sehr viel Aceton auf und verdunstet die Lösung, bis sich schwarze theerartige Massen auszuscheiden beginnen. Nun wird die Flüssigkeit mit Essigäther erschöpft, mit Hülfe von Benzoylchlorid und Natronlauge benzoylirt und der abfiltrirte, mehrfach aus Alkohol umkrystallisirte Niederschlag (Sm.-P. 169°) durch acht- bis zehnstündiges Erhitzen mit conc. Salzsäure gespalten.

Eigenschaften. Das auf diese Weise erhaltene salzsaure Salz schmilzt bei 267°, seine warme alkoholische Lösung liefert auf Zusatz von Platinchlorid ein sich sofort in sechsseitigen Plättchen ausscheidendes Platinsalz $(C_8H_{11}NO \cdot HCl)_2 \cdot PtCl_4$. Die wässerige Lösung des salzsauren Salzes wird durch Phosphorwolframsäure, Platinchlorid und Bromwasser gefällt, nicht durch Pikrinsäure und Kaliumquecksilberjodid. Die freie Base giebt mit Millon's Reagens beim Erwärmen schöne Rothfärbung.

Vorkommen. $C_6H_3 \langle {OH(1) \atop {OH(4) \atop CH_2-COOH(5)}}$

207. **Homogentisinsäure (Dioxyphenylessigsäure)** $C_8H_8O_4$ wurde zuerst von Wolkow u. Baumann[4]) aus einem Alkaptonharn dargestellt und als diejenige Substanz erkannt, welche diesem Harn die zuerst von Boedeker[5]) beschriebenen Eigenschaften, sich beim Stehen an der Luft besonders auf Alkalizusatz zu bräunen und Kupferoxyd in alkalischer Lösung zu reduciren, verlieh. Sie ist seitdem häufiger aus Alkaptonharnen isolirt. Nach Tyrosineingaben tritt die Säure in solchen Harnen in vermehrter Menge auf.

Darstellung Synthetisch stellten Baumann und Fränkel[6]) sie aus dem Gentisinaldehyd dar. Um sie aus Harn zu gewinnen, säuert man mit Schwefelsäure an (75 ccm 1:12 verdünnter Schwefelsäure auf 1 Liter Harn), dampft auf dem Wasserbade bis auf den zehnten Theil ein und extrahirt vier bis fünf Mal mit dem dreifachen Vol. Aether. Die Aetherauszüge werden abdestillirt, der Syrup wird in der 30—60 fachen Menge Wasser gelöst, die Lösung filtrirt, erhitzt, mit basischem Bleiacetat versetzt und heiss filtrirt. Beim Erkalten krystallisirt das Bleisalz aus. Nach Garrod[7]) erhält man es sehr viel einfacher, indem man den Harn zum Kochen erhitzt, je 100 ccm mit wenigstens 5—6 g festem Bleiacetat versetzt, sobald es sich gelöst hat, filtrirt und das Filtrat 24 Stunden am kühlen Ort zur Krystallisation stehen lässt. Das in Wasser kaum lösliche Bleisalz wird fein zerrieben, in Wasser zer-

---

[1]) Ann. Chem. Pharm. **133**. 214. (1865.)
[2]) Beitr. z. chem. Phys. u. Path. **1**. 501. (1902.) [3]) Ebendas. **1**. 506. (1902.)
[4]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **15**. 228. (1891.)
[5]) Ann. Chem. Pharm. **117**. 98. (1861.)
[6]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **20**. 219. (1895.) [7]) Journ. of Physiol. **23**. 512.

theilt und durch Schwefelwasserstoff zersetzt, das Filtrat erst auf dem Wasserbad und dann im Vacuum zum Syrup verdunstet.

Die Homogentisinsäure krystallisirt in Prismen mit 1 Mol. Wasser, das aber schon an der Luft fortgeht, wobei die Krystalle zerfallen und undurchsichtig werden. Aus conc. alkoholischer Lösung erhält man durch siedendes Chloroform die wasserfreie Säure in durchsichtigen Blättchen. In Chloroform, Benzol und Toluol ist die Säure fast unlöslich. Sie schmilzt bei 146,5—147° und geht, über 100° getrocknet, unter Verlust von 1 Mol. Wasser in das Lacton über (siehe unten). Beim Erhitzen in weiter Probirröhre sublimirt die schmelzende Säure scheinbar unverändert, aber das Sublimat färbt sich allmählich schön blau. Die wässerige Lösung färbt sich beim langem Stehen an der Luft dunkel. Mit Ammoniak oder Natronlauge auch schon mit Alkalicarbonat tritt Braun- bis Schwarzfärbung ein. Silbernitratlösung giebt in einigen Secunden Reduction von Silber, ammoniakalische Silberlösung giebt sofortige Reduction. Fehling'sche Lösung wird langsam in der Kälte, schnell beim Erwärmen reducirt. Wismuthsubnitrat wird kaum reducirt. Eisenchlorid giebt eine noch bei Gehalt von 1 Th. Säure in 4000 Th. Lösung erkennbare, rasch vorübergehende Blaufärbung. Beim Kochen mit conc. Eisenchloridlösung tritt Geruch nach Chinon auf. Millon's Reagens giebt Gelbfärbung und einen amorphen Niederschlag, der beim Erhitzen ziegelroth wird. 1 proc. Lösungen von Homogentisinsäure werden durch Bleiacetatlösung noch sofort, 0,2 proc. nach einiger Zeit gefällt. Das Bleisalz $(C_8H_7O_4)_2Pb + 3\,H_2O$ krystallisirt in Nadeln und Prismen, schmilzt bei 214—215°, verliert sein Krystallwasser beim Liegen im Exsiccator oder beim Erhitzen und löst sich in 675 Th. Wasser bei 20°, nicht in Alkohol oder Aether. Beim Schütteln einer ammoniakalischen Lösung von Homogentisinsäure mit Benzoylchlorid und Natronlauge fällt das Amid der Dibenzoylhomogentisinsäure aus. Aus dem Harn erhält man diesen Körper bei der gleichen Behandlung auch ohne Zusatz von Ammoniak (Orton und Garrod[1]). Eigenschaften.

Das Lacton der Homogentisinsäure, welches beim Erhitzen über 100° entsteht, krystallisirt in kurzen Prismen, ist schwer in kaltem, ziemlich leicht in heissem Wasser löslich und kann aus dieser Lösung umkrystallisirt werden. Sm.-P. 191°. Es giebt mit Millon's Reagens Rothfärbung; seine wässerige Lösung reducirt neutrale Silberlösung nicht, auf Ammoniakzusatz alsbald. Lacton.

Beim Schmelzen der Homogentisinsäure mit Kali bilden sich Hydrochinon und Gentisinsäure. Zersetzung.

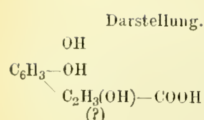
208. **Uroleucinsäure (Dioxyphenylmilchsäure)** $C_9H_{10}O_5$ ist von Kirk[2]) aus einem Alkaptonharn, in dem sie neben Homogentisinsäure vorhanden war, isolirt worden. Vorkommen.

---

[1]) Journ. of Physiol. **27**. 89. (1902.)

[2]) Brit. med. Journ. 1886. II. 1017, 1888. 232. Journ. of Anat. and Phys. **23**. 69.

Darstellung.

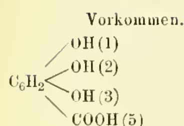


Der in derselben Weise, wie im vorigen Paragraphen angegeben, angesäuerte und eingedampfte Harn wird mit Aether extrahirt, die (sehr verdünnte) wässerige Lösung des Aetherrückstandes mit bas. Bleiacetat (zur Entfernung etwa vorhandener Homogentisinsäure) ausgefällt, das Filtrat nach Entfernung des Bleies mit Schwefelwasserstoff zuerst auf dem Wasserbade, dann im Vacuum eingeengt. Es scheiden sich aus dem braunen, dickflüssigen Rückstand strahlige Krystalle ab, die sich in Aether leichter lösen als die braunen Massen und auf diese Weise allmählich rein erhalten werden können (Huppert[1]).

Eigenschaften.

Die Krystalle scheiden sich aus der Aetherlösung in Drusen oder Garben nadelförmiger Krystalle oder in einzelnen schräg abgeschnittenen Prismen ab; sie lösen sich in ungefähr 5 Th. Aether, in 6 Th. Alkohol, 25 Th. kaltem und 20 Th. heissem Wasser, nicht in Chloroform und in Petroläther. Sm.-P. 130,3°. 2 proc. und stärkere wässerige Lösungen werden durch Bleiacetat gefällt, verdünntere nicht durch neutrales wohl aber durch basisches Bleiacetat, noch verdünntere auch durch dieses nicht, sondern erst beim Eintragen von krystallisirtem Bleiacetat. Wässerige Lösungen färben sich beim Stehen allmählich, beim Eindampfen schnell dunkel, ebenso alkalisch gemachte Lösungen unter Sauerstoffaufnahme; mit Eisenchlorid färben sie sich ganz vorübergehend grün. Die Säure reducirt neutrale sowie ammoniakalische Silberlösung und Fehling'sche Lösung und zwar diese ungefähr fünfmal so stark wie Glykose. Wismuthnitrat in alkalischer Lösung wird nur reducirt, wenn die Lösung mindestens 0,5 proc. ist. Gegen Millon's Reagens verhält sie sich genau wie die Homogentisinsäure (Huppert).

Vorkommen.



209. **Gallussäure (Trioxybenzoësäure) $C_7H_6O_5$.** Ohne Zweifel aus Gerbsäure in der Nahrung herstammend, ist Gallussäure im Menschen- und Pferdeharn mehrmals aufgefunden worden[2]). Aus dem mit Essigsäure angesäuerten Harne wird sie mit den Oxysäuren zusammen von Aether aufgenommen und aus der sauren wässerigen Lösung des Aetherrückstandes durch neutrales Bleiacetat gefällt. Säuert man diesen Niederschlag an, schüttelt mit Aether, löst den Aetherrückstand in Wasser und lässt verdunsten, so scheidet sie sich zuweilen in geringer Menge krystallinisch ab.

Eigenschaften.

Sie krystallisirt in feinen Nadeln mit 1 Mol. Wasser und ist in heissem Wasser, Alkohol sowie Aether leicht löslich. Versetzt man eine wässerige etwa 10 proc. Lösung der Säure mit mässigem Ueberschuss von Phenylhydrazin und der gleichen Menge 50 proc. Essigsäure und erhitzt eine Stunde im Wasserbade, so scheidet sich beim Erkalten Gallussäurephenylhydrazid als Prismen ab, die in Alkohol oder heissem Wasser ziemlich leicht löslich sind und bei 187° schmelzen.

Nachweis.

Eine wässerige Lösung reducirt alkalische Silberlösung schon bei gewöhnlicher Temperatur, bräunt sich auf Zusatz von Alkalien, giebt mit Eisenoxydsalzen schwarzblaue Färbung und mit Cyankalium eine schöne Rothfärbung, die beim ruhigen Stehen bald verschwindet, beim Umschütteln wieder erscheint (Sidney Young[3]). Mit Mil-

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **23**. 412. (1897.)

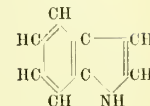
[2]) Baumann, Ebendas. **6**. 193. (1882.)

[3]) Ber. d. d. chem. Ges. **16**. 2691. (Refer.) (1883.)

lon's Reagens giebt die Gallussäure einen ziegelrothen Niederschlag, der beim Kochen graubraun wird (Huppert).

Indol und Indolderivate.

210. **Indol** C_8H_7N bildet sich, meist zusammen mit Skatol, bei der Fäulniss von Eiweissstoffen (Nencki[1]), desgleichen beim Schmelzen dieser Stoffe mit Kali (Kühne[2]). In Fäces und Darminhalt von Menschen und Thieren findet es sich entweder mit oder ohne Skatol sehr häufig. Vorkommen.



Synthetisch wurde es zuerst von Baeyer[3]) durch Destillation der Producte starker Reduction von Indigo oder Isatin mit Zinkstaub, sowie durch Schmelzen von o-Nitrozimmtsäure mit Kali unter Zusatz von Eisenfeilspähnen gewonnen, dann von Baeyer und Caro[4]) reichlicher beim Durchleiten von o-Diaethyltoluidin durch ein glühendes Rohr und auf verschiedene andere Weise erhalten. Ueber die Darstellung aus Fäulnissgemischen siehe § 218; über die Trennung von Skatol siehe § 211. Darstellung.

Indol krystallisirt aus heisser wässeriger Lösung in Blättchen, aus Ligroïn in grossen, atlasglänzenden Blättchen; es schmilzt bei 52°, siedet nicht ohne Zersetzung bei 253—254° (corr.) und verflüchtigt sich leicht mit Wasserdämpfen. Die Dämpfe haben einen eigenthümlichen widerlichen Geruch. Es löst sich ziemlich leicht in heissem, weniger in kaltem Wasser, leicht in Alkohol, Aether, Chloroform, Benzol, Ligroïn und lässt sich seinen wässerigen Lösungen durch Schütteln mit Ligroïn entziehen. Es verhält sich wie eine schwache Base und verbindet sich mit concentrirten, nicht mit verdünnten Säuren. Die salzsaure Verbindung ist in Wasser schwer löslich und wird beim Kochen mit Wasser zersetzt. Auf Zusatz von einigen Tropfen Salpetersäure und Kaliumnitritlösung scheidet sich aus einer kaltgesättigten wässerigen Lösung ein rother Niederschlag von salpetersaurem Nitrosoindol $C_{16}H_{13}(NO)N_2 . HNO_3$ aus, der sich sehr wenig in Wasser, leicht in Alkohol, gar nicht in Aether löst, sehr zersetzlich ist und trocken erhitzt verpufft (Nencki[5]). Bringt man in Benzol gelöstes Indol und Pikrinsäure zusammen, so verbinden sie sich zu gleichen Molecülen und diese Verbindung scheidet sich in langen rothen, stark glänzenden, in kaltem Benzol oder Ligroïn schwer löslichen Krystallen ab, die aus heissem Benzol gut umkrystallisirt werden können. Zur Gewinnung des Indols aus dieser Verbindung zerlegt man sie durch Ammoniak, destillirt entweder im Wasserdampfstrome ab oder schüttelt die Lösung mit Ligroïn aus, welches beim Verdunsten das Indol schön krystallisirt zurücklässt. Eigenschaften.

Beim Erhitzen des Pikrats mit Alkalilauge wird Indol zersetzt (Unter- Zersetzung.

---

1) Ber. d. d. chem. Ges. 8. 336. (1875.) 2) Ebendas. 8. 206. (1875.)
3) Ann. Chem. Pharm. **140**. 295. (1866.) u. Supplbd. **7**. 56. (1870.) Ber. d. d. chem. Ges. **1**. 17. (1868.), **3**. 885. (1870.)
4) Ebendas. **10**. 1262. (1877.) 5) Ebendas. **8**. 723. (1875.)

sehied vom Skatolpikrat), während nach Salkowski[1]) freies Indol, ebenso behandelt, überdestillirt.

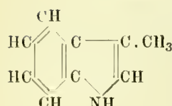
Nachweis. Zum Naehweis des Indols dienen folgende Reactionen:

1. Auf Zusatz einiger Tropfen Salpetersäure und einiger Tropfen ganz verdünnter Kaliumnitritlösung (0,02 proc. oder noch sehwäeher) färbt sieh eine Indollösung aueh bei noch sehr starker Verdünnung roth. Bei reiehlieherem Gehalt tritt der oben erwähnte Niedersehlag von salpetersaurem Nitrosoindol auf.

2. Legal's Probe[2]). Indollösung mit Nitroprussidnatriumlösung bis zur Gelbfärbung versetzt wird auf Zusatz einiger Tropfen Natronlauge tief violettblau; auf Zusatz von Salzsäure oder Eisessig wird die Farbe dann rein blau.

3. Ein mit starker Salzsäure befeuehteter Fiehtenspahn wird dureh Indol in alkoholischer Lösung in kurzer Zeit kirschroth gefärbt.

Vorkommen. 211. **Skatol (Pr-3-Methylindol)** C_9H_9N ist von Brieger[3]) als Bestandtheil der mensehliehen Faeces erkannt und häufig im Darminhalt von Mensehen und Thieren neben Indol naehgewiesen. Es entsteht wie das Indol bei der Fäulniss der Eiweissstoffe[4]) und beim Sehmelzen derselben mit Kali[5]). Bei aehttägiger Fäulniss von Gehirnmasse bildete es sieh neben Spuren von Indol (Neneki).



Darstellung. Baeyer[6]) erhielt es zugleich mit Indol bei der Destillation der Reduetionsproduete von Indigoblau mit Zinkstaub. Um es synthetisch darzustellen, vermischt man naeh E. Fiseher[7]) die Verbindung von Propionaldehyd und Phenylhydrazin mit dem gleiehen Gewicht Chlorzink, erhitzt, naehdem die heftige Reaetion vorüber ist, noeh zwei Minuten auf 180° und destillirt im Wasserdampfstrom. Ueber die Darstellung aus Fäulnissgemisehen siehe § 218.

Eigenschaften. Das Skatol krystallisirt ähnlieh dem Indol in farblosen Blättehen, sehmilzt bei 95°, siedet bei 265—266° und hat steehenden Fäealgeruch. Es löst sieh sehwerer in Wasser als Indol, geht aber noch leiehter bei der Destillation mit den Wasserdämpfen über als dieses, löst sieh leieht in Alkohol, Aether, Chloroform und Benzol. Mit Salzsäure vereinigt es sich zu krystallisirter Verbindung $2C_9H_9N.HCl$, welehe in Alkohol leieht löslieh,

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **8**. 441. (1884.)

2) vergl. Salkowski, Ebendas. **8**. 447. (1883—1884.)

3) Ber. d. d. chem. Ges. **10**. 1027. (1877.)

4) Nencki, Centralbl. f. d. med. Wiss. 1878. S. 849, Zeitschr. f. physiol. Chem. **4**. 371. (1880.) u. Journ. f. prakt. Ch. N. F. **20**. 466. (1879.)
E. u. H. Salkowski, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. **12**. 651. (1879.)
Brieger, Ebendas. **12**. 1985. (1879.), Zeitschr. f. physiol. Chem. **4**. 414. (1880.) u. Journ. f. prakt. Chem. N. F. **17**. 124. (1878.)

5) Nencki, Journ. f. prakt. Chem. N. F. **17**. 97. (1878.)

6) Ber. d. d. chem. Ges. **13**. 2339. (1880.)

7) Ebendas. **19**. 1563. (1886.) u. Ann. Chem. Pharm. **236**. 137. (1886.)

in Wasser sowie Aether unlöslich ist. Seine Lösung in Benzol mit gleichfalls in Benzol gelöster Pikrinsäure versetzt, giebt krystallinischen Niederschlag der pikrinsauren Verbindung, wie Indol. Beim Erhitzen des Pikrats mit mässig verdünnter Natronlauge destillirt Skatol unzersetzt (Unterschied von Indolpikrat) (Baeyer).

Dem Nachweis geht zweckmässig die Trennung vom Indol voran. Dazu benutzt man die geringere Löslichkeit des Skatols in Wasser, seine leichtere Fällbarkeit aus der alkoholischen Lösung durch Wasser, seine grössere Flüchtigkeit mit Wasserdämpfen und besonders das verschiedene Verhalten der Pikrate bei der Destillation mit Natronlauge: Skatol geht dabei unverändert in das Destillat über, Indol nicht. Skatol giebt folgende Reactionen: Trennung von Indol und Skatol.

1. Mit einigen Tropfen Salpetersäure und etwas Kaliumnitritlösung versetzt, giebt eine wässerige Lösung von Skatol keine Rothfärbung wie Indol, sondern weissliche Trübung. Nachweis.

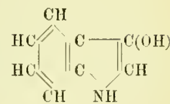
2. Es löst sich in concentrirter Salzsäure mit violetter Farbe.

3. Ein mit Salzsäure befeuchteter Fichtenspahn wird durch Skatollösung in Wasser oder Alkohol nicht roth gefärbt; wird dagegen ein mit Skatol in heisser alkoholischer Lösung getränkter Fichtenspahn in kalte starke Salzsäure getaucht, so färbt er sich zunächst kirschroth, die Farbe geht nach einiger Zeit in ein dunkles Violett über. Die Reaction ist nicht so empfindlich wie bei Indol (E. Fischer).

4. Auf Zusatz von Nitroprussidnatrium und Natronlauge färbt sich Skatollösung intensiv gelb; versetzt man dann mit dem halben Volumen Eisessig, erhitzt zum Sieden und erhält darin einige Minuten, so färbt sich die Flüssigkeit allmählich violett (Salkowski[1]).

5. Beim Erwärmen mit Schwefelsäure entsteht eine prachtvolle purpurrothe Färbung (Ciamician und Magnanini[2]).

212. **Indoxyl** C_8H_7NO findet sich als Indoxylschwefelsäure (und Indoxylglycuronsäure) im Harn. Vorkommen.



Man erhält es durch Zerlegung dieser Säure mit Salzsäure[3]), sowie durch Erwärmen von Indoxylsäure mit Wasser auf 70—80° neben Kohlensäure (Baeyer[4]), Vorländer u. Drescher[5]). Darstellung.

Hellgelbe Krystalle[5]), löslich in Wasser mit grüner Fluorescenz, in Alkohol, Aether, besonders leicht in Aceton, mit schwach überhitztem Wasserdampf theilweise unzersetzt flüchtig. Sm.-P. 85°. Mit verdünnten Säuren entwickelt es einen unangenehmen Geruch und wandelt sich in eine amorphe, rothe Substanz um; in concentrirter Schwefel- oder Salzsäure ist es beständiger. Bei der Einwirkung von pyroschwefelsaurem Kali auf In- Eigenschaften.

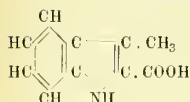
---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **8.** 448. (1883—1884.)
[2]) Ber. d. d. chem. Ges. **21.** 1928. (1888.)
[3]) Baumann u. Brieger, Zeitschr. f. physiol. Chem. **3.** 254. (1879.)
[4]) Ber. d. d. chem. Ges. **14.** 1744. (1881.) [5]) Ebendas. **35.** 1701. (1902.)

doxyl in Kalilauge gelöst entsteht Indoxylschwefelsäure. Indoxyl oxydirt sich in alkalischer Lösung, besonders in ammoniakalischer, an der Luft zu Indigblau nach der Gleichung $2\,C_8H_7NO + O_2 = C_{16}H_{10}N_2O_2 + 2\,H_2O$, ebenso sofort auf Zusatz von Salzsäure und Eisenchlorid; mit Eisenchlorid allein entsteht eine weisse, amorphe Substanz, die aber von Salzsäure sofort in Indigo umgewandelt wird. Auf Zusatz von Natriumcarbonat und Isatin zu einer Indoxyllösung bildet sich Indirubin.

Skatoxyl. Skatoxyl C_9H_9NO ist bisher aus dem Harn nicht rein dargestellt worden.

Vorkommen. 213. **Skatolcarbonsäure $C_{10}H_9NO_2$** wurde zuerst von E. u. H. Salkowski[1]) unter den Fäulnissproducten der Eiweissstoffe aufgefunden. Ihr Vorkommen im Harn ist wahrscheinlich, aber noch nicht bewiesen[2]).



Darstellung. Die synthetisch durch Erhitzen des in alkoholischer Schwefelsäure gelösten Hydrazins der Propionylameisensäure[3]) oder durch Erhitzen von Skatol und metallischem Natrium im Kohlensäurestrom[4]) dargestellte Skatolcarbonsäure unterscheidet sich in mehreren Punkten von der natürlichen und giebt auch die unten aufgeführten Reactionen nicht. Ueber die Darstellung aus Fäulnissgemischen siehe § 218. Aus zwei Kilo feuchten Fibrins, welches 26 Tage gefault hatte, wurden einmal 1,3 g erhalten.

Eigenschaften. Die Säure krystallisirt in Blättchen, welche in Alkohol und Aether leicht, in Wasser wenig löslich sind und bei 164° schmelzen. Beim höheren Erhitzen zerfällt sie in Kohlensäure und Skatol. Unreine wässerige Lösungen zersetzen sich schon beim Verdampfen.

Nachweis. Zum Nachweis dienen folgende Reactionen, welche in wässeriger Lösung noch bei einer Verdünnung 1 : 1000 eintreten (Salkowski).

1. Mit einigen Tropfen reiner Salpetersäure von 1,2 spec. Gew. und wenigen Tropfen 2 proc. Kaliumnitritlösung entsteht ziemlich schnell kirschrothe Färbung, dann Trübung unter Ausscheidung eines rothen Farbstoffs.

2. Mit dem gleichen Volumen Salzsäure von 1,12 spec. Gew. und einigen Tropfen 1—2 proc. Chlorkalklösung erhält man allmählich purpurrothe Färbung und ebensolchen Niederschlag.

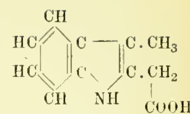
3. Mit einigen Tropfen Salzsäure und mit zwei bis drei Tropfen einer ganz verdünnten Eisenchloridlösung erhitzt färbt sich die Mischung noch vor dem Sieden intensiv violett.

Vorkommen. 214. **Skatolessigsäure $C_{11}H_{11}NO_2$** wurde von Nencki[5]) unter den Producten der Zersetzung von Serumeiweiss durch anaërobe Spaltpilze ge-

---

1) Ber. d. d. chem. Ges. **13**. 2217. (1880.), Zeitschr. f. phys. Chem. **9**. 8. (1885.)
2) Baumann, Ber. d. d. chem. Ges. **13**. 284. (1880.)
Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. **9**. 32. (1885.)
3) Wislicenus u. Arnold, Ber. d. d. chem. Ges. **20**. 3394. (1887.)
4) Ciamician u. Magnanini, Ebendas. **21**. 1925. (1888.)
5) Monatsh. f. Chem. **10**. 506. (1889.)

funden, am reichlichsten trat sie nach 3—4 wöchiger Zersetzung von Eiweiss durch Rauschbrandbacillen auf.



Darstellung. Zu ihrer Darstellung werden die Massen mit Oxalsäure versetzt und destillirt, der Destillationsrückstand noch heiss filtrirt und eingedampft. Nach Abtrennung der ausgeschiedenen Oxalsäure u. s. w. wird mit Aether extrahirt und der Rückstand der Aetherauszüge mit überhitztem Wasserdampf destillirt, wobei Fettsäuren und Phenylpropionsäure übergehen, während Hydro-p-cumarsäure und Skatolessigsäure zurückbleiben. Die letztere ist in Wasser weniger löslich als Hydro-p-cumarsäure und kann durch Umkrystallisiren von dieser getrennt werden.

Eigenschaften. Sie krystallisirt in Prismen und unregelmässig gezackten, sechsseitigen Tafeln, ist in kaltem Wasser wenig löslich, leichter in heissem, überhaupt leichter löslich als die Skatolcarbonsäure; in Alkohol und Aether, ebenso in verdünnter Essigsäure ist sie leicht löslich. Sm.-P. 134°. Versetzt man eine Lösung mit conc. Kaliumnitritlösung und säuert dann mit Essigsäure an, so bildet sich alsbald ein gelbes Krystallmagma der Nitrosoverbindung $C_{11}H_{10}(NO)NO_2$, welche bei 135° unter Zersetzung schmilzt.

Nachweis. Zum Nachweis dient diese letztere Reaction. Ferner giebt die wässerige Lösung mit Eisenchlorid eine weissliche Trübung, die beim Erwärmen ziegelroth, in conc. Lösungen feuerroth bis kirschroth wird.

Vorkommen. 215. **Säure $C_{11}H_{12}N_2O_2$** (Indolaminopropionsäure oder Skatolaminoessigsäure?) wurde von Hopkins und Cole[1]) unter den tryptischen und Säurespaltungsproducten von Eiweisskörpern (Caseïn, Eieralbumin, Serumeiweiss) aufgefunden.

Darstellung. Zu ihrer Darstellung wird 1 Kilo Caseïn in 10 Litern 0,8 proc. Sodalösung bei Gegenwart von Trypsin und einem Desinfectionsmittel tagelang verdaut, bis die Tryptophanreaction (Rothviolettfärbung auf Bromwasserzusatz) ihr Maximum erreicht hat, die Lösung auf 80° erwärmt und nach dem Abkühlen filtrirt. Zu dem Filtrat fügt man Schwefelsäure bis zu einem Gehalt von 5—6 pCt. und dann unter starkem Umrühren von einer Lösung, welche 5 pCt. Schwefelsäure und 10 pCt Quecksilbersulfat enthält, zunächst bis zur beginnenden Trübung und dann noch für je einen Liter etwa 25 ccm. Nach 12 Stunden wird der Niederschlag abfiltrirt, mit 5 proc. Schwefelsäure gewaschen, bis das Filtrat mit Millon's Reagens nur noch eine braungelbe Färbung giebt, in anderthalb Liter Wasser zertheilt und mit Schwefelwasserstoff völlig (man erwärmt zwischendurch auf dem Wasserbade) zerlegt. Das Filtrat erhitzt man kurze Zeit, fügt nach dem Erkalten Schwefelsäure (bis zu 5 pCt.) und darauf Quecksilbersulfatlösung bis zur geringen bleibenden Trübung hinzu, filtrirt den Niederschlag, welcher das Cystin enthält, ab und fällt das Filtrat mit Quecksilbersulfat völlig aus. Der mit verdünnter Schwefelsäure und Wasser gewaschene

[1]) Journ. of Physiol. **27.** 418. (1902.)

Niederschlag wird wieder mit Schwefelwasserstoff zerlegt, das Filtrat sorgfältig mit heissem Barytwasser ausgefällt und die schwefelsäure- und bariumfreie Flüssigkeit unter von Zeit zu Zeit erneutem Zusatz von Alkohol auf dem Wasserbade eingeengt, bis die Masse nach dem Erkalten krystallinisch erstarrt. Jetzt filtrirt man ab und krystallisirt unter Zusatz von Thierkohle aus heissem 45 proc. und dann aus 75 proc. Alkohol um.

Eigenschaften. Die Säure krystallisirt in glänzenden Platten, löst sich mässig in kaltem, leicht in heissem Wasser, wenig in absolutem Alkohol, auch in heissem wenig. Bei 220° tritt Farbenänderung, bei 240° Braunfärbung ein, bei 252° ist die vorher schon erweichte Substanz völlig geschmolzen; höher erhitzt entsteht Kohlensäure und weiterhin Indol und Skatol. — Fügt man zu einer wässerigen Lösung Salzsäure und dampft im Vacuum ein, so krystallisirt das salzsaure Salz $C_{11}H_{12}N_2O_2 . HCl$.

Nachweis. Zum Nachweis dienen:

1. die sog. Adamkiewicz'sche Glyoxylsäurereaction (siehe „Eiweissreactionen"), welche noch in 0,01 proc. Lösung positiv ausfällt.

2. Die Tryptophanreaction d. h. eine rosarothe Farbe auf vorsichtigen Zusatz von Bromwasser.

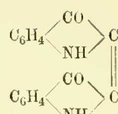
3. Die Pyrrolreaction. Taucht man ein in starke Salzsäure eingetauchtes und mit Wasser abgespültes Streichholz in eine starke wässerige Lösung der Substanz, so nimmt es nach dem Trocknen eine tiefe Purpurfarbe an.

Tryptophan. Hopkins und Cole nehmen an, in dieser Substanz das sog. Tryptophan (Proteïnochromogen) isolirt zu haben, einen regelmässig bei jeder tiefergehenden Zersetzung der Eiweissstoffe (Fäulniss, tryptische Verdauung, Spaltung durch Barytwasser oder Schwefelsäure) auftretenden Körper, der, schon von Gmelin beobachtet, besonders von Stadelmann[1]), Nencki[2]), Beitler[3]) und Kurajeff[4]) untersucht worden ist. Er bedingt die Violettrothfärbung, welche Bromwasser in jeder vorgeschrittenen tryptischen Verdauungsflüssigkeit hervorruft und kann aus einer durch Kochen von coagulirten Eiweissstoffen befreiten Verdauungsflüssigkeit sowohl direct als auch nach vorausgegangener Aussalzung durch Ammonsulfat durch vorsichtigen Zusatz von Brom- oder Chlorwasser in Form seiner röthlich violetten Halogenverbindung (Proteïnochrom) gefällt werden. Für das Chlorproteïnochrom wurde die Zusammensetzung $C_{96}H_{116}Cl_3N_{21}O_{31}S$ gefunden. Das Tryptophan ist gegen Kochen beständig, diffusibel und wird aus seinen wässerigen Lösungen durch Metallsalze nicht gefällt. Durch Phosphorwolframsäure wird es gefällt, lässt sich aber aus dem Niederschlage nicht wieder gewinnen. Beim Schmelzen mit Kali entsteht Pyrrol, Ammoniak, Skatol und Indol.

Vorkommen. 216. **Indigblau (Indigotin)** $C_{16}H_{10}N_2O_2$ entsteht im Harn auf Zusatz des gleichen Volumens einer etwas Chlor oder Eisenchlorid enthaltenden Salzsäure, indem hierdurch die im Harn vorhandene Indoxylschwefelsäure (und Indoxylglycuronsäure) gespalten und das Indoxyl zugleich zu Indigblau oxydirt

---

[1]) Zeitschr. f. Biol. **26.** 491. (1890.)
[2]) Ber. d. d. chem. Ges. **28.** 560. (1895.) [3]) Ebendas. **31.** 1604. (1898.)
[4]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **26.** 501. (1898—1899.)



wird. Seine Bildung erfolgt auch nicht selten auf Zusatz starker Mineralsäuren zum Harn, besonders Pferdeharn. Es findet sich, aus derselben Quelle stammend, auch hier und da an der Oberfläche von faulendem Harn abgeschieden als kupferroth metallisch glänzendes, dünnes Häutchen. In der Indigopflanze ist dieser Farbstoff als Glykosid, Indikan, enthalten.

Darstellung.

Es entsteht durch Einwirkung von indifferentem Sauerstoff auf Indigweiss $C_{16}H_{12}N_2O_2$, von Ozon auf Indol in geringer Menge, von reducirenden Stoffen auf Isatin, Aminooxindol u. s. w. Es bildet sich beim Kochen von o-Nitrophenylpropiolsäure in alkalischer Lösung (verdünnte Natronlauge, Barytwasser oder Sodalösung) mit Trauben- oder Milchzucker[1]), durch Condensation von o-Nitrobenzaldehyd mit Aceton in alkalischer Lösung[2]), durch Schmelzen von Phenylglykocoll oder Phenylglykocoll-o-carbonsäure mit Alkali und Oxydation der wässerigen Lösung an der Luft[3]). Auf dieser letzteren Reaction beruht die synthetische Darstellung im Grossbetriebe.

Eigenschaften.

Indigblau bildet ein dunkelblaues Pulver, es ist unlöslich in Wasser, Alkohol, Aether, verdünnten Säuren und Alkalien, sehr wenig löslich in Chloroform, löslich in heissem Anilin mit blauer Farbe, in geschmolzenem Paraffin mit purpurrother Farbe. Aus beiden Lösungsmitteln kann es krystallisirt erhalten werden; aus heissem Terpentinöl krystallisirt es in schönen, blauen Tafeln. Gegen 300° verflüchtigt es sich, bildet schön purpurroth gefärbten Dampf und schlägt sich an kühleren Stellen in prismatischen Krystallen wieder nieder, die kupferrothen Metallglanz zeigen und im durchfallenden Lichte tief blau erscheinen. Beim Sublimiren zersetzt sich ein Theil des Indigblaus zu Kohle, Kohlensäure und Anilin, ein Theil geht in Indirubin über. Mischt man feinpulveriges Indigblau mit Eisenvitriol, überschüssigem gelöschten Kalk und ausgekochtem Wasser in einer ganz damit gefüllten Flasche und lässt stehen, so geht es in Indigweiss über, lässt man dann die mit Heber klar abgezogene Lösung ruhig an der Luft stehen, so scheidet sich Indigblau wieder ab. Auch in einer Mischung von Indigblau mit heissem Alkohol, sehr starker Natronlauge und etwas Traubenzucker, welche eine verschlossene Flasche ganz füllt, entsteht Indigweiss. Beim Stehen dieser Mischung an der Luft scheidet sich Indigblau in Krystallen aus.

Indigblausulfosäuren.

Unter den Substitutionsproducten des Indigblaus sind von besonderer Wichtigkeit die Indigblaudisulfosäure $C_{16}H_8N_2O_2(SO_3H)_2$ und -monosulfosäure (Phönicinschwefelsäure) $C_{16}H_9N_2O_2(SO_3H)$, welche beide durch Erwärmen von pulverigem Indigblau mit concentrirter Schwefelsäure und Eintragung der Lösung in Wasser dargestellt werden. Die Phönicin-

---

1) Baeyer, Ber. d. d. chem. Ges. **11.** 1228 u. 1296. (1878), **12.** 456. (1879), **13.** 2258. (1880), **14.** 1741. (1881.) Sommaruga, Ebendas. **11.** 1355. (1878.)

2) Baeyer u. Drewsen, Ebendas. **16.** 2205. (1883.)

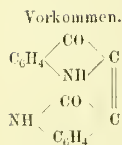
3) Heumann, Ebendas. **23.** 3043. (1890.)

schwefelsäure scheidet sich aus der sauren Lösung in Flocken aus, löst sich aber in destillirtem Wasser, wenn auch schwerer als die Disulfosäure. Die Lösungen dieser Sulfosäuren geben ihren Farbstoff an eingelegte Wollfäden ab. Beim Erhitzen mit Salpetersäure werden sie entfärbt. Beim Kochen mit Natriumcarbonat und Traubenzucker verschwindet gleichfalls die blaue Farbe (Bildung von Indigweisssulfosäure), um beim Schütteln mit Luft wieder zu erscheinen. Die Lösungen beider Säuren und ihrer Alkaliverbindungen absorbiren sehr kräftig das Licht zwischen den Frauenhoferschen Linien C und D nahe vor letzterer Linie; bei hinreichender Dicke der Schicht greift der Absorptionsstreifen über D nach dem Gelbgrün hinüber.

Nachweis. Zum Nachweis von Indigblau sammelt man den zu prüfenden Farbstoff auf einem in die Trichterenge dicht eingesetzten Asbestpfropf, wäscht mit Wasser, dann mit Alkohol (Lösung des fast stets zugleich vorhandenen Indirubins), trocknet und benutzt Theile dieses Pfropfes zu den Reactionen. Als solche eignen sich besonders die Sublimirbarkeit und Bildung purpurrother Dämpfe beim starken Erhitzen im trocknen Probirrohr, das beschriebene Verhalten gegen stark alkalische Traubenzuckerlösung, Wiederblaufärbung der Mischung beim Schütteln mit Luft, Löslichkeit des Indigblaus beim Erwärmen mit conc. Schwefelsäure und das geschilderte Verhalten der wässerigen Lösung der gebildeten Sulfosäuren.

Ein dem Indigblau vielleicht entsprechender Farbstoff, der sich etwa zum Skatoxyl ebenso verhält, wie das Indigblau zum Indoxyl, wurde von Brieger[1]) und von Mester[2]) aus dem Harn von Hunden, denen Skatol beigebracht war, erhalten. Er ist in diesen Harnen in Form eines Chromogens zu finden, welches jedenfalls nur zum Theil Skatoxylschwefelsäure ist, und bildet sich aus demselben unter Einwirkung starker Salzsäure jedenfalls durch Oxydation. Er ist amorph, löst sich in Salzsäure und Schwefelsäure mit kirschrother, in Alkalien und in Ammoniak mit gelber, in Alkohol mit dunkelvioletter Farbe. Er ist unlöslich in Wasser; frisch ausgeschieden löst er sich in Aether, einige Zeit an der Luft aufbewahrt nur wenig in Aether. Bei der Reduction mit Zinkstaub liefert er ein Sublimat, das die Skatolreactionen giebt.

Vorkommen. 217. **Indirubin (Indigroth, Indigpurpurin)** $C_{16}H_{10}N_2O_2$. Dieser mit dem Indigblau isomere Farbstoff entsteht neben Indigblau bei der Zersetzung von Indoxylschwefelsäure (und Indoxylglycuronsäure) im Harn durch Salzsäure und mässiger Oxydation, besonders bei gleichzeitiger Erwärmung und ist in reinem Zustande zuerst von Rosin[3]) aus Harn erhalten worden. Gelegentlich kommt es in faulendem Harn auch in freiem Zustande vor. Es ist identisch mit dem von Schunck[4]) im käuflichen Indigo aufgefundenen rothen Farbstoff (Rosin), sowie mit demjenigen, welchen Baeyer[5]) durch Reduction von Isatinchlorid mit Zinkstaub und durch Einwirkung von



[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **4.** 418. (1880.) [2]) Ebendas. **12.** 130. (1888.)
[3]) Arch. f. pathol. Anat. **123.** 519. (1891.)
[4]) Schunck, Mem. of Manchester Phil. Soc. 2. Ser. **14.** 185.
[5]) Ber. d. d. chem. Ges. **12.** 457. (1879.) u. **14.** 1745. (1881.)

Indoxyl auf Isatin in Alkohol bei Zusatz von Natriumcarbonat erhielt (Schunck u. Marchlewski[1]). Auch aus Isatin entsteht es durch Reduction, sowie aus Indigblau, das bei der Sublimation zum Theil in Indirubin übergeht.

Aus dem Harn gewinnt man es nach Rosin in folgender Weise: Etwa 300 Liter von geeignetem Harn (Darmkrankheiten, Pferdeharn) werden portionsweise (zu 5 Litern) mit basischem Bleiacetat vollständig ausgefällt und filtrirt. Das Filtrat wird mit Salzsäure versetzt, wieder filtrirt, mit soviel Salpetersäure versetzt, dass auf ein Liter Flüssigkeit etwa 20 g Salpetersäure kommen, und sofort in grossem Kolben bis nahe zum Sieden erhitzt. Wenn die Farbe dunkelkirschroth geworden ist, kühlt man rasch ab und fügt Soda in Substanz bis zur schwach sauren Reaction hinzu. Die Flüssigkeit trübt sich, der Farbstoff fällt aus und wird durch ein mehrfach zusammengelegtes Filter, welches so gross sein soll, dass sämmtliche Harnportionen nach einander filtrirt werden können, abfiltrirt. Indigroth, Indigblau und einige andere Farbstoffe bleiben auf dem Filter, das Filtrat ist ganz frei von Indigroth. Der Rückstand wird mit kohlensaurem Natron und Wasser gewaschen, getrocknet und darauf mit Chloroform am Rückflusskühler auf dem Wasserbade ausgekocht, bis sich dasselbe nicht mehr schön dunkelpurpurn, sondern blau färbt. Die abfiltrirten und vereinigten Chloroformauszüge werden abdestillirt und zwar soweit, bis das Indigroth (verbunden mit etwas Indigblau) ausfällt. Jetzt lässt man erkalten, filtrirt das ausgefallene Indigroth ab und wäscht mit kaltem Chloroform nach, bis alle braunen Verunreinigungen möglichst entfernt sind und das Filtrat schön purpurfarben abläuft. Der Rückstand, welcher immer noch Indigblau und Spuren von braunen Verunreinigungen enthält, wird so lange mit immer neuen Mengen Aether am Rückflusskühler gekocht, als noch Indigroth in Lösung geht. Die vereinigten Aetherlösungen destillirt man ab, bis sich Krystalle abzuscheiden beginnen, filtrirt nach 24 Stunden und krystallisirt noch einmal um. Die Ausbeute beträgt kaum 1 g. Darstellung aus Harn.

Indirubin krystallisirt in chokoladebraunen, verzweigten Nadeln oder rhombischen Blättchen und sublimirt beim Erhitzen auf 295—310° unter Bildung von violettrothen Dämpfen. Es ist unlöslich in Wasser, verdünnter Salz- oder Schwefelsäure, Alkalien, löslich mit kirschrother Farbe in Alkohol, Aether, Benzol, Chloroform, besonders leicht in heissem, Eisessig und wird aus der essigsauren Lösung durch Wasser und Natriumcarbonat gefällt. Beim Verdünnen der alkoholischen Lösung mit Wasser scheidet es sich in krystallinischen Flocken aus. Es widersteht der Oxydation kräftiger als Indigblau. Mit Traubenzucker in alkalischer Lösung erwärmt geht es in Indirubinweiss über, mit concentrirter Schwefelsäure bildet es Indirubinsulfosäure. Bei der spectroskopischen Untersuchung zeigen alkoholische Lösungen des Indirubins einen Streifen im grüngelben Theil des Spectrums. Eigenschaften.

Zum Nachweis von freiem Indirubin im Harn neutralisirt man denselben mit Natriumcarbonat, schüttelt mit Aether aus (dabei bleibt Urorosein ungelöst) und verdunstet den roth gefärbten Aether im Schälchen. Der Rückstand muss sich in Alkohol mit schön rother Farbe lösen, die alkoholische Lösung muss mit etwas Soda und Traubenzucker erwärmt farblos werden und beim Schütteln mit Luft die rothe Farbe wieder annehmen (Rosin). Nachweis im Harn.

---

[1]) Ber. d. d. chem. Ges. **28.** 539 u. 2525. (1895.)

Isolirung von Fäulnissproducten*) nach E. und H. Salkowski[1]). (Untersuchung eines Fäulnissgemisches).

218. Die gefaulten Flüssigkeiten**) werden ohne Filtration destillirt, bis der Rückstand dicklich wird, und nach Zufügen von Wasser zum Rückstande abermals destillirt. Die Untersuchung der vereinigten Destillate geschieht nach A, die des Rückstandes nach B.

A. Untersuchung der Destillate. Sie werden mit Salzsäure angesäuert und mit Aether ausgeschüttelt u. z. in einzelnen Portionen nach einander mit einer und derselben Portion Aether. Die mit Aether ausgeschüttelte, wässrige Lösung enthält fast nur Chlorammonium und wird nicht weiter untersucht. Der Aetherauszug, welcher Indol, Skatol, Phenole und Säuren enthält, wird zur Entfernung von Phenolen und Säuren zweimal anhaltend mit Natronlauge (a) geschüttelt, die ätherische Lösung verdunstet, der Rückstand mit Natronlauge versetzt und im Dampfstrom destillirt. Dabei bleibt ein Reste von Phenolen und Säuren enthaltender Indol u. Skatol. Rückstand (b), während Indol und Skatol in das Destillat übergehen und aus diesem mit Aether ausgeschüttelt werden können (Trennung und Nachweis siehe §§ 210 und 211). Die die Phenole und Säuren enthaltenden Flüssigkeiten a und b werden vereinigt, angesäuert, mit Soda alkalisch gemacht und mit Aether geschüttelt, die wässrige Lösung (c) enthält die Säuren, die ätherische, welche die Phenole enthält, wird verdunstet, der Rückstand im Dampfstrom destillirt und das Destillat mit Kresol u. Phenol. Aether ausgeschüttelt. Beim Verdunsten des Aethers hinterbleiben Kresol und Phenol (Trennung und Nachweis siehe § 189).

B. Untersuchung des Rückstandes. Der im Kolben verbliebene Rückstand wird bei durch Soda bewirkter alkalischer Reaction im Wasserbad eingeengt, mit dem dreifachen Volumen Alkohol vermischt und nach 24stündigem Stehen filtrirt. Der Rückstand besteht aus Eiweissresten, Salzen, Bacterien. Das Filtrat wird mit der Lösung c (siehe unter A) vereinigt, bei alkalischer Reaction eingedampft, der Rückstand in Wasser aufgenommen, mit Schwefelsäure stark übersättigt und wiederholt vorsichtig

---

*) Aminosäuren und Ptomaïne sind hier nicht berücksichtigt.

**) Um nicht zu kleine Mengen der einzelnen Fäulnissproducte zu erhalten, ist es nöthig, grössere Eiweissmengen faulen zu lassen. E. u. H. Salkowski verfuhren so: 2 Kilo gut ausgepresstes Blutfibrin, 8 Liter Wasser von 40—42°, welchem 2 g Kaliummonophosphat und 1 g Magnesiumsulfat zugesetzt waren und 200 ccm gesättigte Sodalösung wurden gemischt, einige Cubiccentimeter fauler Fleischflüssigkeit mit darin befindlichen Fleischstückchen hinzugefügt. Der Kolben wurde nun mit einem Kork, durch dessen Bohrung ein mit Gummischlauch versehenes Glasrohr gesteckt ist, verschlossen. Der Gummischlauch tauchte in Wasser. Temperatur etwa 42°. Der Kolben wurde ab und zu geschüttelt. Sobald die Gasentwicklung nachliess, wurde der Gummischlauch durch eine Klemme geschlossen. Die Verarbeitung erfolgte nach 5 bis 6 Tagen.

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **8**. 417. (1883—1884), **9**. 8 u. 491. (1885.)

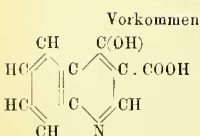
mit Aether ausgeschüttelt. Die leicht eintretenden Emulsionen müssen durch Zusatz von Alkohol oder Erwärmen beseitigt werden. In der wässrigen Lösung bleiben Peptone, Aminosäuren, ein Theil der basischen Stoffe (Ptomaïne). Der Rückstand der ätherischen Lösung, der aus Fett, Säuren und basischen Stoffen besteht, wird mit gemessener Menge Natronlauge in der Wärme aufgenommen und die alkalische Lösung ohne Rücksicht auf Trübung durch Fett mit Chlorbarium ausgefällt. Der Niederschlag besteht aus Fett, Barytseifen, Bariumcarbonat. Das klare Filtrat wird eingeengt, mit Salzsäure im Ueberschuss versetzt und mit Aether ausgeschüttelt. In der wässerigen Lösung bleiben basische Substanzen, z. B. δ-Amino-n-valeriansäure (§ 150), als Salzsäureverbindungen zurück. Der Rückstand der ätherischen Lösung (flüchtige Fettsäuren, Bernsteinsäure, aromatische Säuren) wird im Dampfstrom, welcher vorher durch ein gelinde erhitztes Kupferrohr geht, destillirt und das Destillat direct in Natronlauge, deren Menge die Quantität der oben zum Alkalisiren gebrauchten Natronlauge etwas übersteigt, eingeleitet. Die Destillation dauert sehr lange (bei der Versuchsausführung, wie sie in der ** Anm. angegeben ist, 24—36 Stunden) und muss so lange fortgesetzt werden, bis alle flüchtigen Säuren übergegangen sind. Man erkennt das daran, dass vorgelegtes, schwach alkalisches Wasser während einstündigen Destillirens nicht sauer wird. Das Destillat (a) enthält die flüchtigen Fettsäuren, Phenylessigsäure und Phenylpropionsäure, der Rückstand (b) Bernsteinsäure, Skatolcarbonsäure und Oxysäuren. δ-Amino-n-valeriansäure.

Die Flüssigkeit a wird auf dem Wasserbade eingedampft, mit Salzsäure stark übersättigt und mit Aether ausgeschüttelt. Der beim Verdunsten des Aethers hinterbleibende Rückstand wird aus einem Siedekölbchen mit eingesetztem Thermometer destillirt, und die Vorlage gewechselt, wenn der Siedepunkt auf 260° gestiegen ist. Unterhalb 260° gehen die flüchtigen Fettsäuren (Trennung siehe § 71) über, der oberhalb 260° übergehende Antheil besteht aus Phenylessigsäure und Phenylpropionsäure (Trennung und Nachweis siehe § 197). Die im Kolben zurückbleibende Flüssigkeit b trübt sich beim Erkalten unter Abscheidung harziger Substanz und wird nach einigen Stunden filtrirt. Aus dem Filtrat scheidet sich während 24stündigen Stehens im Eisschrank reine Skatolcarbonsäure (Nachweis siehe § 213) in weissen, kreidigen Körnchen ab. Durch Einkochen der Mutterlauge auf die Hälfte ist oft noch eine zweite Abscheidung zu erhalten, ein Theil bleibt indessen stets in Lösung; dieser geht beim Ausschütteln mit Aether zusammen mit den aromatischen Oxysäuren in den Aether über, während Bernsteinsäure (§ 76) zum grössten Theil zurückbleibt. (Etwa vom Aether aufgenommene Bernsteinsäure scheidet sich beim Concentriren der ätherischen Lösung ab). Aus der heissen wässrigen Lösung des Aetherrückstandes krystallisirt beim Erkalten Hydro-p-cumarsäure (§ 202) und p-Oxyphenylessigsäure (§ 201) aus.

Flüchtige Fettsäuren. Phenylessigsäure u. Phenylpropionsäure. Skatolcarbonsäure. Bernsteinsäure. Hydro-p-cumarsäure u. p-Oxyphenylessigsäure.

Chinolinderivate, Urocaninsäure.

Vorkommen



219. Kynurensäure (γ-Oxy-β-Chinolincarbonsäure) $C_{10}H_7NO_3$. Diese von Liebig[1]) entdeckte Säure ist bisher nur im Hundeharn gefunden worden. Sie tritt hier in geringer Menge und nicht regelmässig auf, wechselt nach Art der Nahrung, mit steigendem Eiweisszerfall zunehmend und zeigt keine Abhängigkeit von der Darmfäulniss[2]). Nach Glaessner und Langstein[3]) entsteht sie aus einem bei der Pancreasverdauung auftretenden Eiweissspaltungsproduct.

Darstellung.

Camps[4]) erhielt sie synthetisch, indem er den o-Amido-phenylpropiolsäureaethylester in den Formyl-o-amidophenylpropiolsäureester überführte und diesen in wässrig-alkoholischer Lösung mit Natronlauge kochte. Aus Hundeharn scheidet sie sich auf Zusatz von 4 ccm concentrirter Salzsäure zu 100 ccm (frischem oder vorher eingeengtem) Harn während ein- bis zweitägigem Stehen zusammen mit Schwefel ab. Am Besten fällt man den Harn nach Hofmeister[5]) mit Salzsäure und Phosphorwolframsäure aus, filtrirt, wäscht mit verdünnter Schwefelsäure bis zum Verschwinden der Chlorreaction, erhitzt den abgepressten und in Barytwasser zertheilten Niederschlag nach Zufügen von festem Baryt zum Kochen und filtrirt die stark alkalisch reagirende Flüssigkeit ab. Die durch Kohlensäure von Baryt befreite und filtrirte Lösung wird eingeengt und mit Salzsäure bis zur stark sauren Reaction versetzt. Die Säure scheidet sich ab.

Eigenschaften.

Die reine Säure krystallisirt in glänzenden, weissen Nadeln mit 1 Mol. Krystallwasser, das erst bei 150° entweicht. Sie löst sich nicht in kaltem Wasser, wenig in Aether, ziemlich gut in heissem Alkohol, beim Erkalten sich wieder ausscheidend; in conc. Mineralsäuren ist sie löslich, in verdünnten nicht. Das salzsaure Salz $C_{10}H_7NO_3 . HCl$ wird durch Wasser zerlegt. Mit Alkalien bildet sie in Wasser lösliche Salze. Löst man sie in Barytwasser, fällt den überschüssigen Baryt durch Kohlensäure, kocht den Niederschlag mit Wasser aus und dampft das Filtrat ein, so scheidet sich beim Stehen das Barytsalz $(C_{10}H_6NO_3)_2Ba + 3 H_2O$ in farblosen, dreieckigen Blättchen (characteristische Form) aus. Mit Phosphorwolframsäure bildet Kynurensäure eine in rhombischen Täfelchen krystallisirende Verbindung. Mit Salz- oder Schwefelsäure angesäuerte Lösungen geben noch bei einem Gehalt von 0,06 pCt. Kynurensäure auf Zusatz von Phosphorwolframsäure innerhalb 24 Stunden krystallinische Abscheidung (Hofmeister). Ueber eine Verbindung mit Kreatinin siehe S. 131.

Zersetzungen.

Trocken erhitzt schmilzt Kynurensäure und zerfällt in Kohlensäure und Kynurin, welches sich aus wässeriger Lösung in schönen Krystallen

---

[1]) Ann. Chem. Pharm. **86**. 125. (1853.)
[2]) Baumann, Zeitschr. f. physiol. Chem. **10**. 131. (1886.)
[3]) Beitr. z. chem. Phys. u. Path. **1**. 34. (1902.)
[4]) Zeitschr. f. physiol Chem. **33**. 390. (1901.) [5]) Ebendas. **5**. 67. (1881.)

abscheidet[1]). Das Kynurin C_9H_7NO schmilzt bei 201°, löst sich auch in Alkohol, giebt mit Platinchlorid ein gut krystallisirendes Doppelsalz und ist nach Wenzel[2]) identisch mit γ-Oxychinolin. Mit concentrirter Salzsäure auf 240° erhitzt liefert Kynurensäure salzsaures Kynurin und beim Erwärmen mit Bromwasser auf dem Wasserbade scheidet sich unter Entweichen von Kohlensäure als krystallisirendes Pulver Tetrabromkynurin $C_9H_3Br_4NO$, in dem ein Atom Brom sehr locker gebunden ist, aus[3]). Beim Erhitzen von Kynurensäure mit Zinkstaub im Wasserstoffstrom entsteht fast reines Chinolin[4]). Kynurin.

Zum Nachweis dient Jaffé's Probe[5]). Beim Abdampfen von Kynurensäure mit Salzsäure und Kaliumchlorat auf dem Wasserbade bis zur Trockne entsteht ein röthlicher Rückstand, der beim Anfeuchten mit Ammoniak sich zunächst braungrün, nach kurzer Zeit aber smaragdgrün färbt. Die Intensität der Färbung nimmt beim Stehen an der Luft erheblich zu. Beim Erwärmen geht die grüne oder blaugrüne Farbe in einen schmutzig violetten Ton über. Diese Reaction gelingt noch mit minimaler Quantität trockner Kynurensäure, selbst direct aus Harn gefällter noch unreiner Säure, aber um so schöner, je reiner sie ist. Nachweis.

220. **Samandarin, Samandaridin**[6]). Giftige Basen unbekannter Constitution aus dem rahmähnlichen Secret der Hautdrüsen von Salamandra maculosa. Zur Darstellung nach Faust kocht man die feinzerhackten Thiere mit essigsäurehaltigem Wasser auf und isolirt aus dem Filtrat die Basen nach einem Verfahren, welches auf der Unfällbarkeit durch bas. Bleiacetat und Fällbarkeit durch Phosphorwolframsäure beruht. Im Einzelnen siehe das Original.

Samandaridinsulfat $(C_{20}H_{31}NO)_2 . H_2SO_4$, in rhombischen Blättchen oder Täfelchen krystallisirend; in Wasser schwerer löslich als Samandarinsulfat, auch in Alkohol schwer löslich, optisch inactiv. Krystallinisches Goldchloriddoppelsalz. Bei der trocknen Destillation mit Zinkstaub entsteht Isochinolin; unter seinen flüchtigen Zersetzungsproducten lässt sich Pyrrol nachweisen.

Samandarinsulfat $(C_{26}H_{40}N_2O)_2 . H_2SO_4$, in Nadeln krystallisirend, in Alkohol löslich, in Wasser schwer löslich, $[\alpha]_D = -53,69°$. Aus der wässerigen Lösung des Sulfats fällt auf Zusatz von Soda oder Natronlauge die freie Base als schwach gelbliches, in Wasser lösliches Oel. Andere krystallinische Verbindungen wurden nicht erhalten.

Die Sulfate beider Basen geben mit conc. Salzsäure übergossen und gekocht zunächst Violett- und dann tiefe Blaufärbung.

---

221. **Urocaninsäure** $C_{12}H_{12}N_4O_4$. Diese ihrer Constitution nach unbekannte Säure wurde bis jetzt nur zweimal u. z. im Hundeharn aufge- Vorkommen.

---

1) Schmiedeberg u. Schultzen, Ann. Chem. Pharm. **164**. 155. (1872.)
2) Monatsh. f. Chem. **15**. 453. (1894.)
3) Brieger, Zeitschr. f. physiol. Chem. **4**. 89. (1881.)
4) Kretschy, Monatsh. f. Chem. **2**. 84. (1881.) u. **5**. 16. (1884.)
5) Zeitschr. f. physiol. Chem. **7**. 399. (1882—1883.)
6) Zaleski, Medic. chem. Unters. v. Hoppe-Seyler. Heft 1. S. 85. (1866.) Faust, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **41**. 229. (1898.) u. **43**. 84. (1900.)

funden von ihrem Entdecker Jaffé[1]) und von Siegfried[2]). Bei beiden Hunden war sie regelmässig vorhanden.

Darstellung. Zu ihrer Darstellung wurde der zum Syrup eingedampfte Harn mit heissem Alkohol wiederholt extrahirt und der Rückstand der alkoholischen Auszüge nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure mit Aether mehrmals ausgeschüttelt. Nach dem Abgiessen des Aethers scheidet sich aus der sauren Flüssigkeit das schwefelsaure Salz ab. Siegfried empfiehlt den durch Kalkwasser von den Phosphaten befreiten Harn mit Chlorzink auszufällen und den Niederschlag mit Schwefelwasserstoff zu zersetzen.

Eigenschaften. Sie krystallisirt in Prismen oder Nadeln mit 4 Mol. Krystallwasser, löst sich in heissem Wasser, schwer in kaltem, nicht in Alkohol und Aether und verbindet sich mit Säuren und mit Basen. Das Nitrat $C_{12}H_{12}N_4O_4 . 2\,HNO_3$ ist in verd. Salpetersäure sehr schwer löslich, das Barytsalz $C_{12}H_{10}N_4O_4Ba$ krystallisirt mit 8 Mol. Wasser, von denen 6 bei 100^0 entweichen, ist in Wasser löslich, in Alkohol unlöslich. Sie schmilzt bei 212—213^0 (nach Siegfried höher) unter Bildung von Kohlensäure und etwas Wasser und Zurücklassung eines gelbbraunen Oels, welches beim Erkalten zu einer glasigen, durchscheinenden, grünlich fluorescirenden Masse erstarrt, die sich in Alkohol leicht, schwer in kaltem, leichter in heissem Wasser löst. Diese noch nicht krystallisirt erhaltene Substanz $C_{11}H_{10}N_4O$, Urocanin. Urocanin, ist eine stark alkalisch reagirende Base, welche ein Platindoppelsalz $C_{11}H_{10}N_4O . 2\,HCl . PtCl_4$ bildet (Jaffé), mit ammoniakalischer Silberlösung sowie mit Kupfersulfat und Natriumbisulfit Niederschläge giebt und die Xanthinreaction zeigt (Siegfried). Ueber die Einwirkung von Brom auf Urocaninsäure siehe bei Siegfried.

Aromatische Aetherschwefelsäuren.

Vorkommen. 222. Diese von Baumann[3]) entdeckten sogenannten gepaarten Schwefelsäuren treten im Harn auf, wenn aromatische Hydroxylverbindungen (z. B. Phenole) durch Resorption von der Darmschleimhaut, von der Haut oder vom subcutanen Gewebe aus in das Blut gelangen, oder wenn Stoffe, welche im Körper eine Umwandlung zu solchen Hydroxylverbindungen erfahren (z. B. Benzol, Indol, p-Oxybenzoësäure, Tyrosin u. s. w.) eingeführt werden. Bei Fleischfressern und Menschen entstammen unter normalen Verhältnissen die aromatischen Hydroxylverbindungen ausschliesslich der Fäulniss der Eiweissstoffe im Darm, so dass die Menge der gepaarten Schwefelsäuren im Harn mit der Darmfäulniss steigt und fällt. Bei den Pflanzenfressern werden solche Hydroxylverbindungen oder ihre Mutter-

---

[1]) Ber. d. d. chem. Ges. **7**. 1669. (1874.) u. **8**. 811. (1875.)

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **24**. 399. (1898.)

[3]) Arch. f. d. ges. Physiol. **12**. 69. (1876.) u. **13**. 285. (1876.)
Zeitschr. f. physiol. Chem. **1**. 60. (1878.), **2**. 335. (1879.), **10**. 123. (1886.)
Baumann u. Herter, Ebendas. **1**. 244. (1877—1878.)

substanzen ausserdem noch präformirt mit der Nahrung eingeführt; ihr Harn ist daher normalerweise sehr viel reicher an gepaarten Schwefelsäuren, als der Harn von Menschen- oder Fleischfressern. Auch im menschlichen Schweiss finden sich aromatische Aetherschwefelsäuren[1].

Die synthetische Darstellung geschieht nach Baumann[2]) durch Einwirkung von pyroschwefelsaurem Kali auf die Hydroxylverbindungen in stark alkalischer Lösung. Darstellung.

Die freien Säuren sind sehr unbeständig. Die Kalisalze krystallisiren und sind in Wasser leicht, in heissem Alkohol schwer, in kaltem abs. Alkohol gar nicht löslich. Sie zersetzen sich allmählich an feuchter Luft und sehr bald beim Erhitzen mit Wasser über 100°; bei 150—160° gehen viele durch Umlagerung in die Salze der isomeren und beständigeren Sulfosäuren über. In stark alkalischen Lösungen zersetzen sie sich auch beim Kochen wenig oder gar nicht, durch die Fäulnissprocesse werden sie schwierig oder gar nicht angegriffen und kurzes Erhitzen mit verdünnten organischen Säuren zerlegt sie nicht bemerkbar. Durch Kochen mit Mineralsäuren werden sie dagegen schnell unter Wasseraufnahme in die Hydroxylverbindung und saures schwefelsaures Salz zersetzt. Eigenschaften.

Ueber den Nachweis gepaarter Schwefelsäuren im Allgemeinen siehe „Untersuchung des Harns". Nachweis.

223. **Phenolschwefelsäure $C_6H_6SO_4$.** Geringe Mengen von phenolschwefelsaurem Kalium finden sich stets im Harne von Pferden, sehr häufig in sehr geringen Mengen auch im Harne von Menschen, Hunden, reichlich im Harne von Menschen und Thieren, denen Phenol auf die Haut oder in Wunden oder in den Darm gebracht ist, auch bei energischer Fäulniss im Darme, besonders nach Einbringung von Tyrosin. Vorkommen. $C_6H_5-O-SO_2(OH)$

Für die synthetische Darstellung[2]) werden 100 Th. Phenol und 60 Th. Kali in 80 bis 90 Th. Wasser in einem geräumigen Kolben gelöst und in die auf 60 bis 70° abgekühlte Lösung 125 Th. feingepulvertes Kaliumpyrosulfat allmählich in kleinen Portionen eingetragen. Man digerirt unter häufigem Umschütteln 8 bis 10 Stunden bei 60 bis 70°, extrahirt dann die Masse mit siedendem 95 proc. Alkohol und krystallisirt das sich als Krystallbrei ausscheidende phenolschwefelsaure Kalium aus heissem Alkohol um. Zur Darstellung aus Harn[2]) verdunstet man 8 bis 10 Liter Harn von Hunden, denen täglich mehrere Gramme Phenol beigebracht sind, zum Syrup, nimmt den Rückstand mit 96 proc. Alkohol auf, versetzt das alkoholische Filtrat kalt mit einer Lösung von Oxalsäure in Alkohol, so lange ein Niederschlag entsteht, filtrirt nach 10 Minuten, versetzt das Filtrat mit Kali bis zur schwach alkalischen Reaction, filtrirt und lässt den beim Verdunsten erhaltenen Syrup recht kalt, am Besten unter 0°, stehen. Die Darstellung.

---

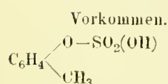
[1]) Kast, Zeitschr. f. physiol. Chem. II. 501. (1887.)

[2]) Baumann, Ebendas. 2. 335. (1878—1879.)

sich abscheidende blättrige Krystallmasse wird abgesaugt und aus kochendem Alkohol umkrystallisirt.

Eigenschaften. Das Kalisalz krystallisirt aus starkem Alkohol in Blättchen, aus verdünntem in grossen, rhombischen Tafeln ähnlich dem Cholesterin. Weitere Eigenschaften siehe § 222. Nachweis siehe § 225.

Vorkommen. 224. **Kresolschwefelsäuren** $C_7H_8SO_4$ finden sich im Harn von Menschen, Pferden und wahrscheinlich vielen anderen Säugethieren u. z. in reichlicherer Menge als die Phenolschwefelsäure. Hauptsächlich kommt die p-Verbindung vor, daneben wenig der o- und vielleicht auch der m-Verbindung[1]).



Darstellung. Die synthetische und die Darstellung aus dem Harn geschieht in der im vorigen Paragraphen beschriebenen Weise. Bisweilen ist der Pferdeharn so reich an kresolschwefelsaurem Kalium, dass dasselbe nach Eindampfen des Harns zum Syrup beim Stehen des letzteren in der Kälte auskrystallisirt. Diese Krystallisation tritt leichter ein, wenn der zum Syrup verdunstete Harn mit Alkohol aufgenommen, der Alkoholauszug zum dünnen Syrup verdunstet und einer Temperatur von unter 0° mehrere Tage lang ausgesetzt wird.

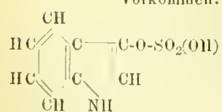
Eigenschaften. Das Kalisalz krystallisirt wie das phenolschwefelsaure Kali. Weitere Eigenschaften siehe § 222. Nachweis siehe § 225.

Vorkommen. 225. **Brenzcatechinschwefelsäure** findet sich stets im Pferdeharn, häufig auch im Menschenharn, fehlt aber bei reiner Fleischnahrung. Nach Einführung von Phenol erscheint sie reichlicher, neben wenig Hydrochinonschwefelsäure. Eine Isolirung aus dem Harn ist noch nicht gelungen.

Darstellung. Eigenschaften. Synthetisch ist brenzcatechinmono- und brenzcatechindischwefelsaures Kali dargestellt (Baumann a. a. O.). Ersteres krystallisirt in fettigen, rhombischen Blättchen ähnlich den Kalisalzen der Phenol- und Kresolschwefelsäure, letzteres bildet ein in Alkohol unlösliches Krystallpulver. Die wässerige Lösung des ersteren färbt sich mit Eisenchlorid violett, die des letzteren giebt keine bestimmte Färbung.

Nachweis der Phenol-, Kresol- u. Brenzcatechinschwefelsäure. Zum Nachweis der in den §§ 223—225 behandelten Aetherschwefelsäuren dampft man den Harn auf ein kleineres Volumen ein und schüttelt mit Aether aus, um in freiem Zustand vorhandene Phenole zu entfernen. Man versetzt jetzt den Harn mit starker Salzsäure, destillirt bis der dritte Theil der Flüssigkeit übergegangen ist, schüttelt den Rückstand nach dem Erkalten mit Aether aus und untersucht das Destillat nach § 189 auf Phenol und Kresol, den Aetherauszug nach § 190 auf Brenzcatechin.

Vorkommen. 226. **Indoxylschwefelsäure (Harnindican)** $C_8H_7NSO_4$ findet sich stets im Harn der Menschen und der Fleischfresser, reichlich im Pferdeharn, ebenfalls reichlich im Hundeharn nach Eingabe von Indol oder o-Nitrophenylpropiolsäure.



[1]) Preusse, Zeitschr. f. physiol. Chem. 2. 355. (1878—1879.)

Die Synthese[1]) geschieht durch Einwirkung von Kaliumpyrosulfat auf eine Lösung von Indoxyl in Kalilauge. Zur Darstellung aus dem Harn benutzt man die von G. Hoppe-Seyler[2]) angegebene Modification eines Verfahrens von Baumann und Brieger[3]). Der indicanreiche (am Besten nach Eingabe von Indol oder o-Nitrophenylpropiolsäure gesammelte) Hundeharn wird zum dünnen Syrup abgedampft und mit Alkohol versetzt, so lange der entstehende Niederschlag sich noch vermehrt. Die abfiltrirte alkohol. Lösung versetzt man mit dem gleichen Volumen Aether von 0,722 spec. Gew., fällt die nach 24 Stunden abgegossene klare Flüssigkeit mit conc. alkoholischer Oxalsäurelösung, so lange ein Niederschlag entsteht, filtrirt schnell und fügt conc. Lösung von Kaliumcarbonat bis zur schwach alkalischen Reaction hinzu. Nach nochmaliger Filtration wird der Aether von der Lösung abdestillirt, der Rest zum dicklichen Syrup eingedampft, mit der 15 bis 20 fachen Menge abs. Alkohols in der Kälte aufgenommen und in einem verschlossenen Gefässe einen Tag stehen gelassen. Alsdann filtrirt man den Niederschlag ab, kocht mit Alkohol aus und lässt die Lösung zur Krystallisation stehen. Die Mutterlauge wird mit Aether gefällt, von den zuerst ausfallenden Schmieren schnell abgegossen und in der Kälte längere Zeit stehen gelassen. Es scheiden sich dann ebenso wie aus dem alkoholischen Auszuge des Niederschlags bald Blättchen von indoxylschwefelsaurem Kali aus, die durch Umkrystallisiren aus heissem Alkohol weiter zu reinigen sind. Darstellung.

Die Krystalle des indoxylschwefelsauren Kalis gleichen denen des phenol- und kresolschwefelsauren Kalis. Trocken im Reagensglase rasch bis zum schwachen Glühen erhitzt entwickeln sie purpurrothe Dämpfe von Indigblau. Beim Erwärmen ihrer wässerigen Lösung mit verdünnter Salzsäure scheidet sich das abgespaltene Indoxyl in öligen Streifen und Tropfen ab und gleichzeitig tritt ein eigenthümlicher von dem des Indols und Skatols verschiedener fäkalartiger Geruch auf. Die öligen Streifen und Tropfen sowie der Geruch verschwinden bald und es entsteht ein brauner Niederschlag, welcher einen rothen Farbstoff und Indigblau enthält. Wird die Spaltung mit Salzsäure bei Gegenwart von gelinde oxydirenden Substanzen, am Besten etwas Eisenchlorid, ausgeführt, so entsteht Indigblau. Auf Zusatz von conc. Salzsäure und Eisenchlorid zu einer Lösung des Kalisalzes entsteht schon in der Kälte erst grüne, dann blaue Färbung und weiter, schneller beim Erwärmen auf 60—70°, Ausscheidung von Indigblau, dem Spuren des rothen Farbstoffs beigemischt sind. Eigenschaften.

Ueber den Nachweis der Indoxylschwefelsäure im Harn siehe „Untersuchung des Harns“. Nachweis.

---

[1]) Baeyer, Ber. d. d. chem. Ges. **14.** 1744. (1881.)
Thesen, Zeitschr. f. physiol. Chem. **23.** 23. (1896—1897.)

[2]) Ebendas. **7.** 423. (1882—1883.)

[3]) Ebendas. **3.** 254. (1879.)

227. **Skatoxylschwefelsäure** $C_9H_9NSO_4$. Ihr Vorkommen im normalen Harn ist nicht erwiesen. Otto[1]) erhielt sie aus dem Harn eines Diabetikers. Nach Eingabe von Skatol erscheint sie im Hundeharn in nur geringer Menge[2]).

Der Versuch, sie synthetisch darzustellen, ergab nur sehr geringe Ausbeute. Die Darstellung aus Harn geschieht nach dem im vorigen Paragraphen beschriebenen Verfahren. Das Kalisalz entwickelte trocken erhitzt rothe Dämpfe, seine wässerige Lösung gab mit conc. Salzsäure den am Ende vom § 216 erwähnten rothen Farbstoff.

Gepaarte Glycuronsäuren.

Vorkommen. 228. Eine ganze Reihe Stoffe der aromatischen und der Fettreihe gehen in den Körper eingeführt entweder direct oder nach erfolgter Hydroxylirung oder Umwandlung in Alkohol eine Verbindung mit Kohlehydrat ein und erscheinen im Harn als sogenannte gepaarte Glycuronsäuren. Die verschiedenen Thierarten und der Mensch verhalten sich in Bezug auf die Fähigkeit, diese Synthese einzugehen, den einzelnen Stoffen gegenüber vielfach verschieden. Nach den Untersuchungen von P. Mayer und Neuberg[3]) finden sich auch im normalen Menschenharn kleine Mengen gepaarter Glycuronsäuren u. z. Phenol- und Indoxyl- bezw. Skatoxylglycuronsäure, nach P. Mayer[4]) auch im Blute.

Von gepaarten Glycuronsäuren sind in krystallisirtem Zustand isolirt die Urochloralsäure[5]) (nach Eingabe von Chloralhydrat), die Camphoglycuronsäure[6]) (nach Eingabe von Campher), die Euxanthinsäure (nach Eingabe von Euxanthon), die Phenolglycuronsäure[7]) und die Thymolglycuronsäure[8]), welche nach Eingabe von Phenol bezw. Thymol neben den entsprechenden gepaarten Schwefelsäuren auftreten, und andere.

Darstellung. Die Darstellung aus dem Harne gründet sich auf die Löslichkeit dieser Verbindungen in einer Mischung von Aether-Alkohol oder auch auf ihre Fällbarkeit durch basisches Bleiacetat, doch gilt weder die eine noch die andere Trennungsmethode in allen Fällen.

Eigenschaften. Die gepaarten Glycuronsäuren drehen links und werden bei der Behandlung mit verdünnten Säuren meist erst in der Wärme unter Wasseraufnahme in Glycuronsäure und einen Paarling, der in allen Fällen eine Hydroxylverbindung ist, gespalten. Manche reduciren Fehling'sche Lösung direct beim Erwärmen, die meisten erst nach vorausgegangener Spaltung. Sie geben die Phloroglucin- und wohl, wenn auch weniger prompt, die Orcinsalzsäurereaction (§ 105).

---

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. **33**. 607. (1884.)
[2]) Brieger, Zeitschr. f. physiol. Chem. **4**. 414. (1880.) Mester, Ebendas. **12**. 130. (1888.)
[3]) Ebendas. **29**. 256. (1900.)
[4]) Ebendas. **32**. 518. (1901.)
[5]) v. Mering, Ebendas. **6**. 480. (1882.)
[6]) Schmiedeberg u. Meyer, Ebendas. **3**. 422. (1879.)
[7]) Külz, Zeitschr. f. Biol. **27**. 247. (1890.)
[8]) Külz, a. a. O. Blum, Zeitschr. f. physiol. Chem. **16**. 514. (1892.)

Zum Nachweis dient die Linksdrehung der die Verbindung enthaltenden Lösung, welche nach dem Kochen mit Säuren in eine Rechtsdrehung übergeht; ferner ein von P. Mayer und Neuberg angegebenes Verfahren. Man spaltet die auf die eine oder andere Weise, z. B. durch Fällung mit Bleiessig isolirte, noch ganz unreine gepaarte Säure durch Kochen mit einer Mineralsäure, neutralisirt mit Soda, fügt p-Bromphenylhydrazinchlorhydrat und die erforderliche Menge Natriumacetat hinzu und prüft die beim Erwärmen entstandene und aus der heiss filtrirten Flüssigkeit abgeschiedene Hydrazinverbindung auf ihr Drehungsvermögen, indem man 0,2 g des Rohproducts in einer Mischung von 4 ccm reinem Pyridin und 6 ccm abs. Alkohol löst und in 10 cm langer Röhre bei Natriumlicht polarisirt. Die p-Bromphenylhydrazinverbindung der Glycuronsäure dreht unter diesen Verhältnissen — 7° 25′ d. h. ausserordentlich viel stärker, als irgend eine andere in Frage kommende. Die genauen Angaben über dieses Verfahren, mit Hülfe dessen auch der Nachweis der gepaarten Glycuronsäuren im normalen menschlichen Harn (50 Liter) gelang, siehe bei P. Mayer und Neuberg. Nachweis.

Einige künstlich erzeugte Stoffwechselproducte.

229. Nach Eingabe von Brombenzol (Chlor-, Jodbenzol) in den Darm von Hunden tritt im Harn eine complicirte Verbindung auf, die auf Salzsäurezusatz schon bei gewöhnlicher Temperatur zerfällt in Glycuronsäure und sich krystallinisch abscheidende Bromphenylmercaptursäure[1] $C_{11}H_{12}BrSNO_3$. Diese letztere krystallisirt in grossen Prismen, schmilzt bei 152—153°, ist in Alkohol ziemlich leicht, in kaltem Wasser fast gar nicht löslich. Beim Kochen mit Säure wird sie in Essigsäure und Bromphenylcysteïn, beim Kochen mit Alkalien in Essigsäure, Ammoniak, Bromphenylmercaptan und Brenztraubensäure bezw. die Zersetzungsproducte der letzteren, Oxalsäure und Uvitinsäure gespalten. Stoffwechselproducte: von Halogenbenzolen.

Furfurol und Brenzschleimsäure, Hunden oder Kaninchen eingegeben, erscheinen im Harn als Brenzschleimsäure $C_5H_4O_3$, Pyromukursäure $C_7H_7NO_4$ und Furfuracrylursäure $C_9H_9NO_4$. Alle drei lassen sich aus dem ätherischen Auszug des abgedampften, mit Alkohol extrahirten und nach dem Verdunsten des Alkohols mit Schwefelsäure angesäuerten Harns gewinnen. Im Hundeharn findet sich die Pyromukursäure zum Theil in Verbindung mit Harnstoff und kann als solche krystallisirt erhalten werden. Durch Kochen mit Barytwasser wird die Pyromukursäure in Brenzschleimsäure und Glykocoll, die Furfuracrylursäure in Furfuracrylsäure und Glykocoll gespalten. Furfurol, Hühnern beigebracht, erscheint in den Excrementen als Pyromucinornithursäure $C_{15}H_{16}N_2O_6$, welche beim Kochen mit Barytwasser in Brenzschleimsäure und Ornithin zerfällt (Jaffé u. Cohn[2]). von Furfurol und Brenzschleimsäure.

---

[1]) Baumann u. Preusse, Zeitschr. f. physiol. Chem. 5. 309. (1881.) Ebendas. 8. 190. (1883—1884.) Ebendas. **20**. 586. (1895.)

[2]) Ber. d. d. chem. Ges. **20**. 2311. (1887.) und **21**. 3461. (1888.)

von α-Thiophensäure. α-Thiophensäure, Kaninchen eingegeben, tritt im Harn als α-Thiophenursäure $C_7H_7NSO_3$ auf, welche beim Kochen mit Barytwasser in α-Thiophensäure und Glykocoll gespalten wird[1]).

---

von Pyridin. Pyridin, Hunden eingegeben, erscheint im Harn als Methylpyridylammoniumhydroxyd, welches als krystallisirtes Platindoppelsalz isolirt wurde[2]).

von α-Picolin. α-Picolin, welches Kaninchen beigebracht wird, tritt im Harn als α-Pyridinursäure $C_8H_8N_2O_3$ auf, die beim Kochen mit Barytwasser in Glykocoll und α-Pyridincarbonsäure zerfällt (Cohn[2]).

Cholesterine.

Vorkommen. $C_{27}H_{43}(OH)$ 230. **Cholesterin $C_{27}H_{44}O$** ist zuerst in der Galle aufgefunden worden. Es kommt, soweit die Untersuchungen reichen, in der Galle aller Thiere mit Ausnahme von Scymnus borealis (Hammarsten[3]) vor. Im Blut und in fast allen Flüssigkeiten und Geweben unseres Körpers ist es in geringer, in der Marksubstanz des Gehirns und der Nerven in reichlicher Menge vorhanden. Im Harn findet es sich höchst selten und dann nur in kleiner Quantität. Krystallinische Abscheidungen von Cholesterin kommen in vielen alten Transsudaten und Cystenflüssigkeiten, in Atherombälgen, den sogen. atheromatösen Arteriengeschwüren, im Eiter, in Tuberkelmassen u. s. w. vor. Die meisten Gallensteine von Menschen bestehen der Hauptsache nach, viele ausschliesslich, aus krystallisirtem Cholesterin. An manchen Orten findet man Cholesterinester höherer Fettsäuren (siehe § 235.)

Darstellung. Zur Darstellung dienen Gallensteine. Man extrahirt sie nach dem Zerreiben mit einer Mischung von Aether und Alkohol, filtrirt und kocht das nach dem Verdunsten des Aethers abgeschiedene und abfiltrirte Cholesterin zur Reinigung mit alkoholischer Kalilauge. Nach dem Eindampfen wird der Rückstand mit Aether extrahirt und das beim Verdunsten des Aethers zurückbleibende Cholesterin aus Alkohol-Aether umkrystallisirt.

Isolirung. Um das Cholesterin aus Geweben und Flüssigkeiten möglichst rein und vollständig zu erhalten, wird zunächst in der § 88 angegebenen Weise ein Aetherauszug hergestellt und der Aetherrückstand nach den Angaben von Ritter[4]) weiter behandelt. Man erhitzt etwa 50 g*) in einer etwa $1^1/_2$ Liter fassenden Schale mit 100 ccm Alkohol auf dem Wasserbade, setzt unter Umrühren Natriumalkoholatlösung (8 g blankes Natrium in 160 ccm 99 proc. Alkohol) hinzu und erhitzt weiter, bis der Alkohol verdunstet ist. Nun fügt man etwa 75 g Kochsalz und soviel Wasser hinzu, dass völlige oder fast völlige Lösung eintritt, verdampft unter häufigem Umrühren zur

---

*) Die zur Verfügung stehende Quantität wird meist eine sehr viel geringere sein. Die quantitativen Angaben sind dann entsprechend zu reduciren.

1) Jaffé u. Levy, Ber. d. d. chem. Ges. **21**. 3458. (1888.)

2) His, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **22**. 253. (1887.)
Cohn, Zeitschr. f. physiol. Chem. **18**. 112. (1894.)

3) Ebendas. **24**. 322. (1898.) 4) Ebendas. **34**. 430. (1902.)

Trockne, trocknet weiter im Trockenschrank bei 80°, pulverisirt fein, lässt noch einige Zeit im Exsiccator stehen und extrahirt das Pulver 9 Stunden im Soxhlet'schen Apparat mit Aether. Die ätherische Lösung, welche anfangs oft trübe ist, sich aber bald unter Abscheidung von Glycerin klärt, giesst man in einen $^3/_4$ bis 1 Liter fassenden Erlenmeyer'schen Kolben, spült mit Aether nach, destillirt ab, löst den Rückstand auf dem Wasserbade in möglichst wenig Alkohol und fügt unter Umschwenken Wasser zu, bis der Kolben ziemlich gefüllt ist. Das Cholesterin fällt aus, wird abfiltrirt, gewaschen und getrocknet.

Eigenschaften. Es ist völlig unlöslich in Wasser, verdünnten Säuren und selbst conc. Alkalien; auch in kaltem Alkohol ist es nicht löslich, dagegen löst es sich reichlich in siedendem Alkohol, in Aether, Chloroform, Benzol, Aethylacetessigsäureaethylester, flüchtigen und fetten Oelen, weniger löslich ist es in den Lösungen gallensaurer (cholsaurer, glyco- und taurocholsaurer) Salze, wenig in den wässerigen Lösungen der Seifen. Das reine Cholesterin krystallisirt aus wasserfreiem Aether, Chloroform oder Benzol in wasserfreien, feinen, seidenglänzenden Nadeln, aus kochendem Alkohol beim Erkalten in grossen, rhombischen Tafeln (mit 1 Mol. Wasser), die besonders aus einer Mischung von Alkohol und Aether beim Verdunsten des letzteren sehr gross und schön werden. Diese rhombischen Tafeln, welche in trockner Luft durch Verwittern schnell undurchsichtig werden, haben entweder 76° 30′ oder 87° 30′ als spitze Kantenwinkel. Während der Krystallisation zeigt sich oft Abrundung des stumpfen und Zuspitzung des spitzen Winkels, ja zuerst scheinen oft nur Nadeln zu entstehen, dann ungleichseitige Wetzsteinformen und diese gehen endlich in die rhombischen Tafeln über. Die Krystalle sind oft so dünn, dass ihre Contouren nur bei sehr engem Diaphragma unter dem Mikroskope sichtbar werden. Trocknes Cholesterin schmilzt bei 145° und destillirt im luftleeren Raume bei 360°. Es vermag 2 Atome Brom oder Jod zu addiren. In warmem Eisessig löst es sich sehr reichlich und beim Erkalten scheidet sich eine Verbindung von Cholesterin und Essigsäure in nadelförmigen Krystallen aus. Durch Zusatz von Alkohol oder Wasser wird sie zerlegt. Ueber Benzoësäure-, Propionsäure- und andere Ester des Cholesterins siehe Obermüller[1]).

Optische Eigenschaften. Cholesterin dreht links u. z. beträgt $[\alpha]_D$ für ätherische Lösungen bei 8 pCt. nach Lindenmayer[2]) —31,59°, bei 2 pCt. nach Hesse[3]) —31,12°, bei 4 bis 6 pCt. nach Burián[4]) —29,92°, für Chloroformlösungen nach Hesse —(36,61° + 0,249 . p).

Zersetzungen. Kochen mit Kalilauge lässt Cholesterin unverändert. Durch Einwirkung von conc. Schwefelsäure entstehen Kohlenwasserstoffe, auch bei $^1/_4$stündigem

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **15**. 37. (1891.)
2) Journ. f. pract. Chem. **90**. 323. (1863.)
3) Ann. Chem. Pharm. **192**. 178. (1878.)
4) Monatsh. f. Chem. **18**. 551. (1897.)

Erhitzen gleicher Theile von trocknem Cholesterin und wasserfreiem Kupfersulfat[1]) entsteht ein Kohlenwasserstoff Cholesterilen $C_{27}H_{42}$.

Nachweis. Zum Nachweis dienen folgende Reactionen:

1. Das characteristische Aussehen der Krystalle unter dem Mikroskope. Bringt man nach Verdunsten des Lösungsmittels auf den Objectträger einige Tropfen ziemlich conc. Schwefelsäure (5 Th. conc. Schwefelsäure + 1 Th. Wasser), so färben sich die Krystalle carminroth, und dann violett. Durch dieselbe Schwefelsäure und ein wenig Jodlösung färben sie sich violett, blau, grün und roth.

2. Salkowski's Probe[2]). Löst man eine Probe trocknen Cholesterins im trocknen Reagensglase in etwas Chloroform und fügt ein dem Chloroformvolumen gleiches Volumen conc. Schwefelsäure hinzu, so färbt sich die Chloroformlösung schnell blutroth, dann kirschroth und purpurfarbig. Giesst man die Lösung in eine Schale aus, so färbt sie sich bald blau, grün, endlich gelb. Die Schwefelsäure unter der Chloroformlösung zeigt eine deutlich grüne Fluorescenz, verdünnt man sie mit Eisessig, so wird die Lösung rosa- bis purpurroth und behält die grüne Fluorescenz.

3. Liebermann-Burchard'sche Probe[3]). Cholesterinkrystalle werden in wenig Chloroform im trocknen Probirrohr gelöst, mit zwei bis drei Tropfen Essigsäureanhydrid und dann vorsichtig tropfenweise mit conc. Schwefelsäure versetzt. Es tritt zunächst eine rosenrothe, darauf schön blaue Färbung ein, die dann später in Grün übergeht; handelt es sich um ganz geringe Menge von Cholesterin, so tritt nach einigen Minuten direct eine Grünfärbung auf.

4. Obermüller's Probe. Eine Probe reines, trocknes Cholesterin wird in einem trocknen Probirglase mit einigen Tropfen Propionsäureanhydrid versetzt und etwa eine halbe Stunde im kochenden Wasserbade erhitzt. Fügt man nach dem Erkalten Alkohol hinzu, bringt etwas von dem entstandenen Niederschlag an einen Glasstab, erwärmt und hält ihn nun vor einen dunklen Hintergrund, so sieht man während des Abkühlens die geschmolzene Masse violett, dann allmählich blau, grün, grau, orange, carminroth und kupferroth werden.

5. Dampft man eine sehr kleine Probe Cholesterin auf einem Tiegeldeckel mit einem Tropfen conc. Salpetersäure über freier Flamme vorsichtig ohne zu starke Erhitzung ab, so hinterbleibt ein gelber Fleck, der noch warm mit Ammoniak übergossen roth wird.

Vorkommen. 231. **Koprosterin** $C_{27}H_{48}O$ wurde von Bondzyński[4]) aus menschlichen Fäces dargestellt, in Hunde- und Pferdefäces ist es nicht aufgefunden worden. Es entsteht

---

1) Mauthner u. Suida, Monatsh. f. Chem. **17**. 29. (1896.)

2) Arch. f. d. ges. Physiol. **6**. 207. (1872.)

3) Ber. d. d. chem. Ges. **18**. 1804. (1885.) Burchard, Diss. Rostock 1889.

4) Ber. d. d. chem. Ges. **29**. 476. (1896.)
Bondzyński und Humnicki, Zeitschr. f. physiol. Chem. **22**. 396. (1897.)

jedenfalls im Darm durch Reduction aus Cholesterin. Eingegebenes Cholesterin erscheint zum grossen Theil als Koprosterin in den Fäces. Das Excretin von Marcet[1]) und von Hinterberger[2]) war wahrscheinlich mehr oder weniger reines Koprosterin.

Eine künstliche Darstellung aus Cholesterin durch Reductionsmittel ist nicht gelungen. Die Gewinnung aus Fäces beruht auf seiner Löslichkeit in Aether.

Es löst sich in denselben Lösungsmitteln wie Cholesterin, aber auch in kaltem Alkohol und krystallisirt stets in langen, feinen Nadeln. Es schmilzt bei 95—96°, addirt kein Brom oder Jod und zeigt $[\alpha]_D = + 24°$. Es giebt im Allgemeinen die Cholesterinreactionen aber mit geringen Abweichungen. Bei der Salkowski'schen Probe (§ 230,2) tritt zunächst gelbe, erst allmählich orange- und dunkelrothe Farbe ein, bei der Liebermann-Burchard'schen (§ 230,3) sofort Blaufärbung, der bald Grünfärbung folgt. Der Propionsäureester (Obermüller's Probe, § 230,4) zeigt nicht die Farbenerscheinungen. Eigenschaften.

232. **Hippokoprosterin**, von Bondzyński u. Humnicki (a. a. O.) aus Pferdefäces erhalten, scheint ebenfalls ein im Darm entstandenes Reductionsproduct des Cholesterins zu sein, bei dem aber die Reduction noch weiter gegangen ist als beim Koprosterin. In Alkohol ist es weniger leicht löslich als Koprosterin; aus einer heissen conc. alkoholischen Lösung scheidet es sich beim Abkühlen als Gallerte ab, die aus zu Sternen vereinigten Nädelchen besteht. Es schmilzt bei 74—75°, addirt kein Brom und zeigt schwache Rechtsdrehung.

233. **Isocholesterin** $C_{26}H_{44}O$ *) wurde von E. Schulze[3]) im Wollfett**) der Schafe neben Cholesterin aufgefunden. Es ist darin als Ester höherer Fettsäuren vorhanden. Auch in der Vernix caseosa kommt es vor[4]). Vorkommen.

Um Isocholesterin aus Wollfett zu gewinnen, kocht man dasselbe mit Weingeist aus, verseift den ungelösten Theil, isolirt das Gemenge von Cholesterin und Isocholesterin mit Hülfe von Aether und wandelt es durch einige Minuten langes Erhitzen mit Benzoylchlorid im Kölbchen auf 160° in die Benzoësäureester um. Dieselben werden durch Alkohol, in dem sie schwer löslich sind, von unverändertem Cholesterin getrennt und in Aether gelöst. Beim langsamen Verdunsten scheidet sich der Cholesterinester in kleinen, dicken, rechtwinkligen Tafeln, der Isocholesterinester als lockeres Pulver feiner Nadeln (Sm.-P. 194—195°) ab. Letzteres lässt sich von den tafelförmigen Krystallen abschlemmen und durch Kochen mit alkoholischer Kalilauge in Benzoësäure und Isocholesterin zerlegen. Darstellung.

Das Isocholesterin krystallisirt aus Aether und Aceton in feinen, durchsichtigen Nadeln, aus heissem Alkohol beim Erkalten in gallertartigen Massen oder, wenn die Lösung verdünnt ist, in weissen Flocken. Eine conc. heisse alkoholische Lösung erstarrt beim Erkalten zu einer durchscheinenden Eigenschaften.

---

*) Früher wurde für das Cholesterin die Formel $C_{26}H_{44}O$ angenommen.

) Darmstätter und Lifschütz erhielten aus Wollfett ein in mehrfacher Beziehung abweichendes Isocholesterin. Ber. d. d. chem. Ges. **31. 97 u. 1122. (1898.)

[1]) Ann. de chim. et de phys. **59**. 91. (1860.)

[2]) Ann. chem. Pharm. **166**. 213. (1873.)

[3]) Ber. d. d. chem. Ges. **5**. 1075. (1872.) u. **6**. 251. (1873.)
E. Schulze und Barbieri, Journ. f. pract. Chem. N. F. **25**. 159. (1882.)

[4]) Ruppel, Zeitschr. f. physiol. Chem. **21**. 122. (1895—1896.)

Gallerte. Es schmilzt bei 138—138,5°, giebt die Liebermann-Burchard'sche Cholesterinreaction (§ 230,3), während die Salkowski'sche (§ 230,2) nur sehr wenig ausgeprägt ist.

Optische Eigenschaften. Es zeigt in 7 proc. ätherischer Lösung $[\alpha]_D = +60,0^{\circ}$.

234. **Phytosterine.** Aus Pflanzen sind eine ganze Reihe von Cholesterinen dargestellt, die in Bezug auf Schmelzpunkt, spec. Drehung und Reactionen von einander und vom Cholesterin verschieden sind. Eine Zusammenstellung siehe bei Burián[1]).

Vorkommen. 235. **Cholesterinester.** Cholesterinester höherer Fettsäuren (Cholesterinfett) finden sich im Wollfett der Schafe[2]), im Blut von Säugethieren[3]) und Vögeln[4]), in der Lymphe (vom Hund[3]), im Gehirn, in der Vernix caseosa[5]) und nach den Untersuchungen von Liebreich[5]) auch in allen keratinösen Substanzen (Haare, Federn, Hufe u. s. w.). Im Wollfett und in der Vernix caseosa sind auch Isocholesterinester nachgewiesen worden.

Darstellung. Synthetisch gewinnt man sie durch dreistündiges Erhitzen von Cholesterin mit der fünffachen Menge Palmitinsäure (Stearinsäure, Oelsäure) auf 200°.

Isolirung. Zu ihrer Isolirung dient ihre Löslichkeit in Aether oder Chloroform. Um sie von Cholesterin zu trennen, benutzte E. Schulze[2]) Alkohol, in dem sie sich sehr viel schwerer lösen, Liebreich Aethylacetessigsäureaethylester, welcher gleichfalls Cholesterin leichter löst. Um sie aus Blut zu erhalten, verfährt man nach Hürthle[3]) so: Blutserum wird mit dem dreifachen Vol. 96proc. Alkohol versetzt und geschüttelt. Nach mehrstündigem Stehen wird abgesaugt und der Rückstand abermals mit Alkohol mehrere Tage bei 30—40° und darauf wiederholt Tage lang bei derselben Temperatur mit einer Mischung von Alkohol und Aether extrahirt. Aus dem zweiten Alkoholauszug scheidet sich in der Kälte der Oelsäureester ab und aus den vereinigten Alkohol-Aetherauszügen der Palmitinsäureester (zuletzt noch etwas Oelsäureester).

Eigenschaften. Die Cholesterinester zeigen die Lösungsverhältnisse des Cholesterins, sind aber in Alkohol schwer löslich; sie sind verseifbar, aber weniger leicht als die Fette, sie werden nicht ranzig und geben die Liebermann-Burchard'sche Probe (§ 230,3). Mit Wasser zusammengeknetet vermögen sie grosse Mengen Wasser aufzunehmen. Das käufliche Lanolin ist im Wesentlichen ein mechanisches Gemenge von Cholesterinfett und Wasser (Liebreich).

Oelsäureester. Cholesterinölsäureester wurde schon von Beudet[6]) aus Blut isolirt

---

1) Monatsh. f. Chem. **18**. 551. (1897.)

2) Hartmann, Ueber den Fettschweiss der Schafwolle. Dissert. Göttingen 1868. E. Schulze, a. a. O.

3) Hürthle, Zeitschr. f. physiol. Chem. **21**. 331. (1895—1896.)

4) Brown, The Americ. Journ. of Physiol. **2**. 306. (1899.)

5) Liebreich, Arch. f. path. Anat. **121**. 383. (1890.) Ruppel, a. a. O.

6) Ann. de chim. et de phys. (2.) **52**. 337. (1833.)

und unter dem Namen Serolin beschrieben. Er krystallisirt in langen, dünnen Nadeln. Sm.-P. 41—45°, $[\alpha]_D = -18{,}48°$. Er giebt die Cholesterinreactionen, aber in etwas modificirter Form.

Palmitinsäureester. Cholesterinpalmitinsäureester krystallisirt in seideglänzenden oder schneeweissen Blättchen und löst sich in allen Lösungsmitteln nicht so leicht wie der Oelsäureester, in Alkohol sehr schwer. Sm.-P. 78°. Die Cholesterinreactionen fallen weniger schön aus.

Gallensäuren.

Vorkommen. 236. **Cholsäure (Cholalsäure)** $C_{24}H_{40}O_5$ kommt in geringer Menge im Dünndarm, reichlicher im Dickdarm und in den Excrementen von Rindern, Hunden und wohl auch Menschen vor, auch im icterischen Harn. In der Galle findet sie sich in Verbindung mit Glykocoll und Taurin als Glyko- und Taurocholsäure und wird durch anhaltendes Kochen mit Alkalien oder heiss gesättigtem Barytwasser (Verseifung) aus diesen Säuren frei.

$C_{20}H_{31}\begin{cases} COOH \\ CH(OH) \\ CH_2(OH) \\ CH_2(OH) \end{cases}$

Darstellung. Zur Darstellung aus Rindergalle benutzt man am besten das Verfahren von Mylius[1]), welches durch Lassar-Cohn[2]), Vahlen[3]) und Pregl[4]) einige Verbesserungen erfahren hat. Rindergalle wird mit dem fünften Theil ihres Gewichts 30proc. Kalilauge 24 Stunden unter Erneuerung des verdampfenden Wassers gekocht, die Flüssigkeit dann mit Kohlensäure gesättigt und bis zum dicken Syrup verdunstet, dieser noch heiss in Alkohol gegossen, gut geschüttelt und in einen Scheidetrichter gebracht. Nach einiger Zeit lässt man die hauptsächlich Kaliumcarbonat enthaltende Schicht von der überstehenden alkoholischen ab und schüttelt die wässrige Lösung nochmals mit kleiner Menge Alkohol. Die vereinigten alkoholischen Lösungen, welche cholsaures Kali neben fettsaurem und choleïnsaurem Kali enthalten, werden mit Wasser soweit verdünnt, dass höchstens noch 20 pCt. Alkohol sich in der Lösung befinden, dann mit verdünnter Chlorbariumlösung gefällt, so lange ein Niederschlag entsteht, und filtrirt. Das Filtrat, unter beständigem Umrühren mit Salzsäure bis zur sauren Reaction (diffuse milchige Trübung) versetzt, scheidet nach kurzer Zeit die Cholsäure in harzigen Massen ab, die nach Abgiessen der Mutterlauge und Durchkneten mit etwas Wasser nach Minuten oder Stunden einen festen Krystallkuchen bilden. Dieser wird zerkleinert, getrocknet, pulverisirt, zur Entfernung der Salzsäure mit ein wenig Ammoniak enthaltendem Alkohol kalt zerrieben und nach dem Absaugen aus heissem Alkohol ein- oder mehrmals umkrystallisirt. Die Säure darf in Ammoniak gelöst sich mit Chlorbarium nicht trüben. Sollte letzteres der Fall sein (Anwesenheit von Choleïnsäure), so muss man die ganze Menge in Ammoniak lösen und mit Chlorbarium ausfällen, das Filtrat wieder mit Salzsäure versetzen u. s. w. Ueber die Isolirung aus Faeces siehe „Untersuchung der Faeces". Isolirung aus Faeces.

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **12**. 262. (1888.) [2]) Ebendas. **19**. 563. (1894.)
[3]) Ebendas. **21**. 253. (1896.) [4]) Arch. f. d. ges. Physiol. **71**. 303. (1898.)

Eigenschaften. Cholsäure löst sich in Wasser schwer (1 Th. in 4000 Th. kaltem und 750 Th. kochendem Wasser), in Alkohol ziemlich leicht (1 Th. braucht mehr als 20 Th.); in Alkalien löst sie sich leicht und treibt aus Alkalicarbonaten Kohlensäure aus. Aus kalten wässrigen Lösungen z. B. aus sehr verdünnter Essigsäure krystallisirt sie in rhombischen Tafeln mit 1 Mol. Krystallwasser, aus Alkohol in farblosen Tetraëdern oder Oktaëdern mit 1 Mol. Alkohol (Mylius[1]). Diese Krystalle sind zwar luftbeständig, geben aber beim Trocknen bis 130° den Alkohol vollständig ab und verlieren auch in Wasser Alkohol unter Trübung. Auch aus Methyl-, Allyl- und andern Alkoholen krystallisirt sie mit 1 Mol. Alkohol und geht auch mit Senfölen Verbindungen ein. Sie schmeckt süsslich bitter und schmilzt

Jodverbindung. (alkohol- und wasserfrei) bei 195°. Mit Jod verbindet sich Cholsäure nach Mylius[2]) zu einer krystallinischen Verbindung, welche im auffallenden Lichte gelben Metallglanz, im durchfallenden Lichte schön blaue Färbung zeigt (siehe Nachweis 1).

Salze. Die Alkalisalze sind in Wasser leicht löslich, in Alkohol weniger leicht und krystallisiren beim Abdampfen der alkoholischen Lösung aus. Eine nicht zu verdünnte alkoholische Lösung der Alkalisalze wird durch Aether krystallinisch gefällt, in einer nicht zu verdünnten wässrigen rufen Bleiacetat und Chlorbarium Niederschläge hervor. Das Bariumsalz krystallisirt in feinen, seidenglänzenden, oft radiär zusammengestellten Nadeln und löst sich in 30 Th. kaltem, leichter in heissem Wasser, sehr leicht in Alkohol. Das Bleisalz und das Silbersalz sind in Wasser unlöslich, in heissem Alkohol löslich.

Optische Eigenschaften. Die Cholsäure und alle ihre bis jetzt untersuchten Verbindungen drehen rechts. Vahlen fand für die tetraëdrische in alkoholischer Lösung $[\alpha]_D = +31{,}55^0$, für die krystallwasserfreie in alkoholischer Lösung $[\alpha]_D = +37{,}02^0$, für das Kalisalz in 3 proc. wässriger Lösung $[\alpha]_D = +27$ bis $27{,}6^0$, für das Natronsalz in 4 proc. wässriger Lösung $[\alpha]_D = +27{,}6^0$. Die specifische Drehung der Salze nimmt mit abnehmender Concentration zu.

Trockne Cholsäure entwickelt beim Erhitzen nicht unangenehm aromatisch

Anhydride. riechende Producte. Beim Erhitzen auf hohe Temperaturen entweder für sich oder mit Eisessig im zugeschmolzenen Rohr oder mit Wasser entziehenden Mitteln bildet sie Anhydride (Choloïdinsäure, Dyslysin u. s. w.), welche nicht krystallisiren und beim Kochen mit alkoholischer Kalilauge wieder in Cholsäure übergehen. Durch trockne Destillation der freien Cholsäure für sich wird keine Kohlensäure abgespalten, aber es destillirt zunächst viel Wasser über, dann ein zähflüssiges, gelbbraunes, grün fluorescirendes Oel, welches nicht mit Wasserdämpfen flüchtig ist und

---

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **19**. 369. (1886.)

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **11**. 306. (1887.)
Ber. d. d. chem. Ges. **28**. 385. (1895.)

hauptsächlich über 300° übergeht. Es hat ungefähr die Zusammensetzung $C_{48}H_{66}O_3(=2C_{24}H_{40}O_5-7H_2O)$, löst sich in Aether, ziemlich in heissem Alkohol, nicht in kaltem Alkohol oder Wasser. Dieses Oel giebt die Pettenkofer'sche Probe nicht (Schotten[1]).

Durch Reduction geht die Cholsäure über in Desoxycholsäure (siehe § 237), durch energischere (Jodwasserstoff und Phosphor) in eine Monocarbonsäure (resp. deren Anhydrid) die sogenannte Cholylsäure $C_{24}H_{40}O_2$, nicht krystallisirt erhalten[2]). Durch Oxydation wird sie übergeführt zunächst in Dehydrocholsäure (siehe § 238) und dann in Biliansäure (siehe § 239), ohne dass das Molecül eine wesentliche Störung des inneren Baus zu erfahren scheint. Reductionsproducte. Oxydationsproducte.

Zum Nachweis der Cholsäure dienen die Krystallform, die rechtsseitige Circumpolarisation der alkoholischen Lösung, das Auftreten aromatischer Producte bei der trocknen Destillation und vor Allem folgende Reactionen, von denen Probe 1 nur der Cholsäure zukommt, während die Proben 2 und 3 auch von vielen andern einfachen und gepaarten Gallensäuren gegeben werden. Nachweis.

1. Mylius' Jodreaction. Wenn man 0,02 g krystallisirte Cholsäure in 0,5 g Alkohol löst, der Lösung 1 ccm $^n/_{10}$ Jodlösung hinzufügt und das Gemisch allmählich mit Wasser verdünnt, so erstarrt die anfangs braune Flüssigkeit plötzlich zu einem dunkeln Brei mikroskopischer Nadeln, die im auffallenden Lichte gelben Metallglanz und im durchfallenden Lichte blaue Färbung zeigen.

2. Fluorescenzreaction. In concentrirter Schwefelsäure löst sich Cholsäure mit baldigem Eintritt grüner Fluorescenz.

3. Pettenkofer's Probe. Fügt man zu einer etwas Cholsäure enthaltenden wässerigen Flüssigkeit im Reagensglase ein wenig Rohrzucker und dann allmählich tropfenweise unter Umschütteln concentrirte Schwefelsäure, indem man durch Erwärmen oder Abkühlen in kaltem Wasser die Temperatur auf etwa 70° erhält, so tritt, wenn die zunächst gefällte Cholsäure durch den weiteren Zusatz der Schwefelsäure wieder gelöst ist, und noch weiter Schwefelsäure zugesetzt wird, eine zuerst kirschrothe, dann prachtvoll purpurrothe Färbung der Flüssigkeit ein, die sich im Verlaufe von 8 Tagen unter allmählichem Dunklerwerden mehr in eine blaurothe Farbe umwandelt. Diese Gallensäurereaction beruht, wie Mylius[3]) nachgewiesen, auf der Einwirkung des Furfurols, welches aus dem Zucker durch Schwefelsäure gebildet wird. Die purpurrothe Lösung, passend mit Alkohol verdünnt, zeigt einen Absorptionsstreifen zwischen D und

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **10**. 175. (1886.)

[2]) Sennkowski, Monatsh. f. Chem. **19**. 1. (1898.)
Pregl, Arch. f. d. ges. Physiol. **71**. 303. (1898.) u. **72**. 266. (1898.)

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **11**. 492. (1887.)

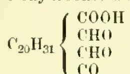
E neben letzterer Linie und einen zweiten vor F. (Schenck[1]). Anwesenheit von Albuminstoffen und solchen Körpern, die mit Schwefelsäure leicht sich zersetzen, sowie Anwesenheit von viel Farbstoffen oder oxydirenden Substanzen beeinträchtigen die Reaction sehr. Albuminstoffe geben mit concentrirter Schwefelsäure auch ähnliche Purpurfärbung, ebenso Oelsäure, Amylalkohol und andere organische Körper, doch fehlen die Spectralerscheinungen.

Desoxycholsäure.

237. Desoxycholsäure $C_{24}H_{40}O_4$ wurde von Mylius[2]) aus faulender Rindergalle neben Cholsäure und Choleïnsäure und aus der Fäulniss überlassenem cholsaurem Natrium krystallisirt erhalten, Sm.-P. 160—170°. Sie unterscheidet sich von der Cholsäure in folgenden Punkten: 1. Durch ihre leichtere Löslichkeit in Alkohol, 2. durch ihre Schwerlöslichkeit in Essigsäure, 3. durch ihren rein bittern, gar nicht süssen Geschmack, Kratzen im Schlunde. 4. Das Natriumsalz der Säure wird durch 10 proc. Natronlauge aus wässeriger Lösung gefällt, das cholsaure Natrium nicht. 5. Das Bariumsalz der Säure wird aus selbst sehr verdünnter Lösung in Ammoniak durch Bariumchlorid in der Kälte gefällt, das cholsaure Barium erst beim Erhitzen der concentrirten Lösung.

Die von Vahlen[3]) aus gefaulter Galle und durch Reduction von Cholsäure in essigsaurer oder alkalischer Lösung mit Zink erhaltene Desoxycholsäure hatte dieselbe Zusammensetzung, wurde in ammoniakalischer Lösung ebenfalls durch Chlorbarium gefällt, schmolz aber bei 140—145° und war in Essigsäure sehr viel leichter löslich als die von Mylius dargestellte.

Dehydrocholsäure

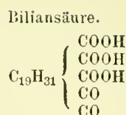


238. Dehydrocholsäure $C_{24}H_{34}O_5$ wurde zuerst von Hammarsten[4]) durch Einwirkung von Chromsäure auf Cholsäure in Eisessig in sehr guter Ausbeute dargestellt. Aus Alkohol krystallisirt sie in alkoholfreien Nadeln vom Sm.-P. 231—232°. Beim Kochen in alkoholischer Lösung wird sie leicht esterificirt (Lassar-Cohn[4]). Sie ist in kaltem Alkohol und kaltem Wasser schwer löslich, hat einen rein bittern Geschmack und dreht rechts. Das Natronsalz zeigt in wässriger Lösung $[\alpha]_D = +27,64°$. Sie vereinigt sich mit Hydroxylamin zu einem Trialdoxim, an dem zwei Aldehydgruppen und eine Ketongruppe betheiligt erscheinen (Mylius[5]). Bringt man sie in Eisessig mit Brom zusammen, so entsteht schön krystallisirende Monobromdehydrocholsäure (Landsteiner[6]). Sie giebt keine Pettenkofer'sche Probe, aber die Fluorescenzreaction (§ 236, 2 u. 3).

---

[1]) Anatom. physiol. Unters. Wien 1872. S. 47.
[2]) Ber. d. d. chem. Ges. **19**. 373. (1886.)
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **21**. 253. (1895—1896) u. **23**. 99. (1897.)
[4]) Ber. d. d. chem. Ges. **14**. 71. (1881.)
Latschinoff, Ebendas. **18**. 3045. (1885.)
Lassar-Cohn, Zeitschr. f. physiol. Chem. **16**. 493. (1892.)
[5]) Ber. d. d. chem. Ges. **19**. 2005. (1886.) u. **20**. 1979. (1887.)
[6]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **19**. 285. (1894.)

239. Biliansäure $C_{24}H_{34}O_8$. Diese von Cleve[1]) entdeckte dreibasische Säure entsteht bei der Oxydation von Cholsäure und Dehydrocholsäure mittelst Kaliumchromat und Schwefelsäure neben Isobiliansäure[2]). In sehr reichlicher Ausbeute und in viel bequemerer Weise erhält man sie nach Lassar-Cohn[3]) durch Oxydation von Cholsäure mit Kaliumpermanganat in Sodalösung. Die Trennung von der Isobiliansäure geschieht am besten mit Hülfe der Barytsalze, von denen biliansaures Barium in heissem und kaltem Wasser leicht löslich, isobiliansaures Barium in heissem Wasser so gut wie unlöslich ist. Die Biliansäure ist in kaltem Wasser wenig, in Alkohol verhältnissmässig leicht löslich, sie krystallisirt aus Alkohol in diamantglänzenden Krystallen, das saure Barytsalz in hexagonalen Täfelchen, sie dreht rechts. Sm.-P. 269°. Pettenkofer'sche Reaction negativ, Fluorescenzreaction positiv (§ 236, 2 u. 3). Biliansäure.



240. **Choleïnsäure $C_{25}H_{42}O_4$ (?)** wurde von Latschinoff[4]) als normaler Bestandtheil der verseiften Ochsengalle aufgefunden und von Lassar-Cohn[5]) auch in der verseiften menschlichen Galle nachgewiesen. Vorkommen.

Zu ihrer Gewinnung[6]) benutzt man den Niederschlag, den man bei der Darstellung der Cholsäure aus Rindergalle (siehe § 236) durch Chlorbarium erhält. Dieses Barytsalz wird durch Kochen mit Sodalösung in das Natriumsalz übergeführt, das Filtrat eingedampft und mit Alkohol extrahirt. Die wässrige Lösung des eingedampften alkoholischen Filtrats wird mit Bariumacetat (zur Entfernung der Fettsäuren) ausgefällt. Aus dem Filtrat fällt auf Zusatz von Salzsäure die Choleïnsäure, die sich durch Umkrystallisiren aus Eisessig reinigen lässt. Darstellung.

Sie löst sich sehr schwer in Wasser, etwas leichter in Aether, ziemlich leicht in Alkohol, aber schwerer als Cholsäure. Die beim Abkühlen einer heissen alkoholischen Lösung sich ausscheidenden Krystalle sind wasserfrei und schmelzen bei 185—190°. Das Barytsalz krystallisirt aus heisser alkoholischer Lösung in sphärischen Aggregaten radiär gestellter Nadeln. Eigenschaften.

Sie dreht rechts. Latschinoff[7]) fand für 6,06 proc. alkoholische Lösung $[\alpha]_D = +56,40°$, Vahlen für 2,5 proc. alkoholische Lösung $[\alpha]_D = +48,87°$, mit abnehmender Concentration zunehmend. Optische Eigenschaften.

Bei der Oxydation mit Chromsäure entsteht Dehydrocholeïnsäure[8]), Oxydationsproducte.

---

1) Bull. soc. chim. (2.) **35**. 373 u. 429. (1881.)
2) Latschinoff, Ber. d. d. chem. Ges. **18**. 3044. (1885.) u. **19**. 480. (1886.) Mylius, Ebendas. **20**. 1981. (1887.) Bulnheim, Zeitschr. f. physiol. Chem. **25**. 304. (1898.)
3) Ber. d. d. chem. Ges. **32**. 683. (1899.)
4) Ber. d. d. chem. Ges. **18**. 3039. (1885.)
5) Zeitschr. f. physiol. Chem. **19**. 573. (1894.)
6) Lassar-Cohn, Ebendas. **17**. 607. (1893.)
7) Ber. d. d. chem. Ges. **19**. 1140. (1886.)
8) Latschinoff, Ber. d. d. chem. Ges. **18**. 3045. (1885.)

Cholansäure[1]), Isocholansäure[2]), Säuren, die sich zur Choleïnsäure ebenso verhalten wie die Dehydrocholsäure, Biliansäure und Isobiliansäure zur Cholsäure.

Die Beziehungen der Choleïnsäure zur Desoxycholsäure bedürfen noch der Aufklärung. Latschinoff[3]) hält beide für identisch (er giebt der Cholsäure die Formel $C_{25}H_{42}O_5$), ebenso Lassar-Cohn. Mylius[4]) und Vahlen[5]) erklären beide für verschieden. Da die Desoxycholsäure durch Reduction aus der Cholsäure entsteht, die Choleïnsäure bei der Oxydation Cholansäure, die Cholsäure Biliansäure liefert, so scheint eine Identität ausgeschlossen.

241. **Fellinsäure** $C_{23}H_{40}O_4$ hat Schotten[6]) eine Säure genannt, die er aus verseifter menschlicher Galle neben Cholsäure isolirte. Aus Aether und Benzol erhält man sie krystallisirt, im Allgemeinen krystallisirt sie schwierig; in amorphem Zustand schmilzt sie um 120°, schmeckt bitter und dreht rechts. Sie bildet ebenso wie die Desoxycholsäure und Choleïnsäure ein schwer lösliches Barytsalz, das sich aus der Lösung in verdünntem Alkohol auf Wasserzusatz in sternförmig gruppirten Nadeln abscheidet. Bei der Pettenkofer'schen Reaction (§ 236, 3) entsteht eine mehr dunkelkirschrothe oder blaurothe Farbe, die bei Wasserzusatz verschwindet. Diese Säure bedarf noch der weiteren Untersuchung. Vergl. auch Lassar-Cohn[7]).

242. **α-Hyocholsäure** $C_{25}H_{40}O_4$ findet sich in Verbindung mit Glykocoll als α-Glykohyocholsäure (§ 248) in der Schweinegalle[8]) und wird bei der Verseifung frei. Sie hat wenig Neigung zu krystallisiren, löst sich sehr wenig in Wasser, aber leicht in Alkohol oder Aether und in Alkalien. Sie giebt die Pettenkofer'sche Reaction (§ 236, 3).

243. **β-Hyocholsäure** $C_{24}H_{40}O_4$ (?) in Verbindung mit Glykocoll als β-Glykohyocholsäure (§ 248) in der Schweinegalle (Jolin[8]), verhält sich der α-Säure sehr ähnlich, unterscheidet sich aber von ihr durch das Verhalten der Natronsalze. Das Natronsalz der α-Säure ist in Alkohol sehr leicht löslich und scheidet sich aus einer warmen conc. wässerigen Lösung in weissen Flocken ab, das Natronsalz der β-Säure scheidet sich aus conc. alkohol. Lösung in grossen, sehr dünnen Tafeln ab und ist in Wasser sehr leicht löslich. Durch gesättigte Neutralsalzlösung wird die Lösung des α-Salzes viel reichlicher gefällt als die des β-Salzes. Auch polarimetrisch ergaben sich Unterschiede.

244. **Chenocholsäure** $C_{27}H_{44}O_4$, der α-Hyocholsäure in der Zusammensetzung homolog, wird aus der Taurochenocholsäure durch Kochen mit Barytwasser erhalten (vergl. § 249). Sie krystallisirt sehr schwer beim Stehen der alkoholischen, mit Wasser versetzten Lösung, ist unlöslich in Wasser, löslich in Alkohol oder Aether; die Lösungen

---

1) Latschinoff, a. a. O. u. Ber. d. d. chem. Ges. **19**. 474. (1886.) Bulnheim, Zeitschr. f. physiol. Chem. **25**. 311. (1898.)
2) Latschinoff, Ber. d. d. chem. Ges. **19**. 1529. (1886.)
3) Ber. d. d. chem. Ges. **20**. 1043. (1887.) 4) Ebendas. **20**. 1968. (1887.)
5) Zeitschr. f. physiol. Chem. **23**. 99. (1897.)
6) Zeitschr. f. physiol. Chem. **11**. 268. (1887.) 7) Ebendas. **19**. 566. (1894.)
8) Strecker u. Gundlach, Ann. Chem. Pharm. **62**. 205. (1847.) Jolin, Zeitschr. f. physiol. Chem. **13**. 223. (1889.)

reagiren sauer, die Säure wird von verdünnter Kalilauge gelöst, aber nicht von concentrirter. Das Barytsalz ist unlöslich in Wasser. Die Pettenkofer'sche Reaction (§ 236, 3) fällt positiv aus[1].

245. **Lithofellinsäure** $C_{20}H_{36}O_4$ ist bis jetzt nur in den seltenen orientalischen Bezoaren gefunden worden, die fast ganz aus dieser Säure bestehen. Vorkommen.

Aus dem heissen alkoholischen Auszug der gepulverten Steine scheiden sich nach dem Concentriren allmählich Krusten stark glänzender, farbloser, harter Krystalle ab. Sie stellen sehr spitzige Rhomboëder oder dreiseitige Säulen meist mit zugerundeten Flächen dar. Um sie zu reinigen versetzt man die alkoholische Lösung mit überschüssigem Natriumcarbonat, verdunstet zur Trockne, extrahirt mit abs. Alkohol, filtrirt, dampft ein, löst den Rückstand in Wasser, fällt mit Chlorbarium, filtrirt und wäscht mit heissem Wasser aus. Die aus dem eingedampften Filtrat durch Essigsäure ausgefällte Lithofellinsäure wird abfiltrirt, gewaschen und aus wenig siedendem Alkohol umkrystallisirt. Darstellung.

Sie ist leicht löslich in heissem, schwer in kaltem Alkohol, schwer löslich in Aether und in krystallisirtem Zustande unlöslich in Wasser, dagegen scheint die aus ihren Salzen eben abgeschiedene, amorphe Säure löslich zu sein. Die Krystalle schmelzen bei 205°, beim starken Erhitzen geben sie dieselben aromatischen Dämpfe wie die Cholsäure. Die Alkalisalze sind leicht löslich in Wasser, werden aber durch Aetzalkali, kohlensaures Alkali oder andere Salze aus der conc. heissen Lösung in öligen Tropfen ausgeschieden; sie krystallisiren sehr schwer. Das Barytsalz krystallisirt beim Erkalten der heissen conc. wässerigen Lösung in feinen Nadeln. Bei dreistündigem Kochen ihrer alkoholischen Lösung mit wenig Tropfen conc. Salzsäure entsteht ein in Wasser und Alkali unlösliches Oel, welches unter 16 mm Druck bei 245—248° fast unzersetzt destillirt und das Lacton $C_{20}H_{34}O_3$ darstellt (Jünger und Klages[2]). Die Lithofellinsäure dreht rechts u. z. beträgt $[\alpha]_D = + 13{,}76°$. In Verbindung mit Alkalien ist die spec. Drehung grösser als im freien Zustande (Roster[3]). Sehr schöne Pettenkofer'sche Reaction (§ 236, 3). Eigenschaften. Optische Eigenschaften.

Bei mehrstündigem Kochen ihrer alkoholischen Lösung mit Barytwasser geht sie in eine ungesättigte Säure $C_{18}H_{30}O_3$ über, die nach Verdampfen des Alkohols durch Salzsäure abgeschieden wird und in perlmutterglänzenden, farblosen Schuppen krystallisirt, bei 182° schmilzt und fleischrothe Pettenkofer'sche Reaction giebt. Auch sie lässt sich leicht in ein Lacton überführen[2]. Zersetzung.

Zum Nachweise der Lithofellinsäure können besonders die Krystallformen, der hohe Schmelzpunkt, die aromatischen Destillationsproducte, die Pettenkofer'sche Reaction und das Verhalten der Alkali- und Barytsalze dienen. Nachweis.

Neben Lithofellinsäure fand Roster[4]) in orientalischen Bezoaren die einbasische Lithobilinsäure $C_{30}H_{58}O_6$ (?), Sm.-P. 199°, welche krystallisirt erhalten wurde, unlöslich in Wasser, leicht löslich in Alkohol und mässig löslich in Aether ist. Sie bildet ein in Wasser unlösliches Barytsalz und zeigt stärkere Rechtsdrehung als Lithofellinsäure. Lithobilinsäure.

Gepaarte Gallensäuren.

246. **Glykocholsäure** $C_{26}H_{43}NO_6$ stellt eine unter Austritt eines Mol. Wasser zu Stande gekommene Verbindung eines Mol. Glykocoll und eines Vorkommen.

---

1) Heintz u. Wislicenus, Poggendorff's Ann. **108**. 547. (1859.) R. Otto, Zeitschr. f. Chem. 1868. S. 635.

2) Ber. d. d. chem. Ges. **28**. 3045. (1895.) Hier auch ältere Literatur.

3) Gaz. chim. ital. **9**. 364 u. 462. (1879.) Su l'acido lithofellico etc. Firenze 1879.

4) a. a. O. u. Sopra un nuovo acido lithobilico etc. Firenze 1879.

Mol. Cholsäure dar. Sie findet sich besonders reichlich in der Rindergalle hauptsächlich an Natrium gebunden, und soll auch sehr reichlich in der menschlichen Galle enthalten sein. Bei Fleischfressern fehlt sie ganz, so weit deren Gallen bis jetzt untersucht sind. In geringer Menge ist sie in den Excrementen der Rinder nachgewiesen, auch icterischer menschlicher Harn enthält sie fast immer in Spuren.

Darstellung.

Zur Darstellung aus Rindergalle sind verschiedene Methoden angegeben:

1. Man dampft zum dicken Syrup ein, extrahirt mit starkem Alkohol, entfärbt die Lösung durch Kochen mit Thierkohle, destillirt den Alkohol ab und fällt die conc. alkoholische Lösung durch einen Ueberschuss von Aether. Das glyko- und taurocholsaure Natrium werden hierdurch niedergeschlagen. Den Niederschlag, der sich nach Minuten oder erst nach Stunden bis Tagen in schön seidenglänzende Krystallbüschel (Plattner's krystallisirte Galle) verwandelt, löst man in nicht zu wenig Wasser, fügt Aether hinzu und dann so lange verdünnte Schwefelsäure, bis eine starke, beim Umrühren bleibende Trübung entstanden ist. Nach einigen Stunden ist die ganze Flüssigkeit zum Brei feiner, seideglänzender Nadeln erstarrt, die man auf einem Filter sammelt, auspresst, mit Wasser wäscht und durch Lösen in der gerade hinreichenden Menge Alkohol und Fällung mit sehr viel Aether in farblosen, dünnen, langen, sehr schön glänzenden Nadeln rein krystallisirt erhält.

Plattner's krystallisirte Galle.

2. Ein etwas kürzeres Verfahren ist von Gorup-Besanez[1]) empfohlen: Ochsengalle wird im Wasserbade bis nahe zur Trockne verdunstet, der Rückstand mit Alkohol von 90 pCt. extrahirt, der Alkohol verdunstet und der nöthigenfalls mit Wasser verdünnte Rückstand mit Kalkmilch versetzt. Nach gelindem Erwärmen wird filtrirt und das meist schwach gelbe Filtrat nach dem Erkalten mit verdünnter Schwefelsäure bis zur bleibenden Trübung versetzt (Ueberschuss der Schwefelsäure ist zu vermeiden). In wenigen Stunden erstarrt die Flüssigkeit zu einem Krystallbrei. Man saugt ihn ab, löst wieder in Kalkwasser und versetzt mit verdünnter Schwefelsäure bis zur bleibenden Trübung. Nach einiger Zeit hat die Säure sich in blendend weissen Nadeln abgeschieden.

3. Das einfachste Verfahren, welches sich aber nur für Gallen mancher Gegenden z. B. Tübinger Galle eignet, besteht nach Hüfner[2]) darin, dass man frische Galle in einem engen Cylinder mit etwas Aether überschichtet und reine starke Salzsäure (auf 40 ccm Galle 2 ccm) zufügt. Die anfangs milchige Trübung wird bald, oft schon nach wenigen Minuten, krystallinisch. Man giesst den Aether ab, rührt die Masse mit Wasser an, schüttelt stark, filtrirt und wäscht mit kaltem Wasser bis das Filtrat farblos abläuft. Nach einmaligem Umkrystallisiren aus Wasser ist die Säure völlig farblos.

---

[1]) Ann. Chem. Pharm. **157**. 286. (1871.)

[2]) Journ. f. pract. Chem. N. F. **10**. 267. (1874.)

Ueber die Isolirung von Glykocholsäure aus Flüssigkeiten und ihre Trennung von Taurocholsäure siehe § 247. Isolirung aus Flüssigkeiten.

Die Glykocholsäure krystallisirt in feinen Nadeln, löst sich schwer in kaltem, leichter in heissem Wasser, fast gar nicht in Aether, sehr leicht in starkem Alkohol und in Alkalien. Die alkoholische Lösung wird durch Wasserzusatz getrübt und scheidet Flocken und Tropfen ab, die sich allmählich in feine Krystalle umwandeln, die Lösung in Alkalien wird durch Zusatz von etwas Mineralsäure gefällt. Sie schmeckt süsslich bitter, reagirt sauer, treibt beim Abdampfen ihrer Lösungen mit Carbonaten die Kohlensäure aus und bildet in Wasser und Alkohol gut lösliche Alkalisalze. Man erhält sie beim Abdampfen ihrer alkoholischen Lösung in dünnen vierseitigen Prismen. Die wässerige Lösung der Alkalisalze vermag geringe Mengen von Fett und Cholesterin klar zu lösen. Sie wird durch Bleiacetat gefällt, der Niederschlag löst sich in heissem Alkohol und scheidet sich beim Erkalten zum Theil pulverig oder flockig wieder aus. Auch Kupfersulfat, Eisenchlorid und Silbernitrat rufen Niederschläge in den Lösungen der Alkalisalze hervor. Das Silbersalz löst sich etwas in Wasser, besonders beim Erwärmen. Das Barytsalz ist in Wasser leicht löslich. Eigenschaften.

Die freie Säure und ihre Salze drehen rechts u. z. beträgt für die alkoholische Lösung der freien Säure $[\alpha]_D = +29,0^0$, für die alkoholische Lösung des Natronsalzes $[\alpha]_D = +25,7^0$. In wässeriger Lösung ist die specifische Drehung geringer. Die Concentration zeigt keinen Einfluss auf die specifische Drehung (Hoppe-Seyler[1]). Optische Eigenschaften.

Durch anhaltendes Kochen mit verdünnter Salzsäure oder Schwefelsäure, ebenso durch Kochen mit Alkalien oder heiss gesättigtem Barytwasser wird die Glykocholsäure in Cholsäure und Glykocoll gespalten. Trägt man dagegen Glykocholsäure in conc. Schwefelsäure ein, so löst sie sich auf, erwärmt man dann, so scheidet sich Cholonsäure $C_{26}H_{41}NO_5$ als amorpher Niederschlag aus, welcher in Wasser sich nicht löst, in Alkohol leicht löslich ist und nicht krystallisirt. Diese Säure bildet sich auch neben Cholsäure beim Kochen von Glykocholsäure mit starker Salzsäure. Ihr Barytsalz ist in Wasser unlöslich und hierdurch unterscheidet sie sich sowohl von der Glykocholsäure, als auch von der Cholsäure. Auch die Cholonsäure bewirkt rechtsseitige Circumpolarisation und hat eine der Glykocholsäure etwa gleiche specifische Drehung. Zersetzungen. Cholonsäure.

Zum Nachweis dienen die Lösungsverhältnisse, der Geschmack, das Drehungsvermögen und vor Allem die Pettenkofer'sche Reaction (§ 236,3). Vor einer Verwechselung mit Cholsäure schützt das Ausbleiben der Jodreaction (§ 236, 1), vor einer Verwechselung mit Taurocholsäure die Schwerlöslichkeit in Wasser und der fehlende Schwefelgehalt. Nachweis.

247. **Taurocholsäure** $C_{26}H_{45}NSO_7$ stellt eine unter Austritt eines Mol. Vorkommen.

[1]) Journ. f. pract. Chem. **89**. 257. (1863.)

Wasser zu Stande gekommene Verbindung eines Mol. Taurin und eines Mol. Cholsäure dar. Sie findet sich neben der Glykocholsäure in der Rindergalle. Die Menschengalle enthält schwankende, geringe Mengen, die Hundegalle ausschliesslich Taurocholsäure. Auch in der Galle der Schlangen und Fische kommt sie vor. Im icterischen Harn können geringe Mengen vorhanden sein. Sie ist in der Galle stets an Alkalien gebunden.

Darstellung

Zur Darstellung benutzt man Hundegalle. Die eingedampfte Galle wird mit Alkohol extrahirt, die Lösung mit Thierkohle gekocht und eingedampft, der Rückstand mit starkem Alkohol aufgenommen, das eingeengte Filtrat mit einem Ueberschuss von Aether geschüttelt und in verschlossenem Gefässe stehen gelassen, bis der zuerst amorphe Niederschlag krystallinisch geworden ist (taurocholsaures Natrium). Nach Abgiessen des Aethers löst man die Krystalle in Wasser, fällt mit Bleiessig und etwas Ammoniak, wäscht den abfiltrirten Niederschlag, kocht ihn mit starkem Alkohol aus, filtrirt heiss und leitet Schwefelwasserstoff ein. Das Filtrat wird bei sehr mässiger Wärme auf ein kleines Vol. eingedampft und mit grossem Ueberschuss von wasserfreiem Aether gefällt. Der syrupartige Niederschlag wird beim Stehen grösstentheils krystallinisch.

Isolirung der Gallensäuren aus thierischen Flüssigkeiten.

Zur Isolirung von Gallensäuren aus thierischen Flüssigkeiten (Harn, seröse Flüssigkeiten) verfährt man in folgender Weise. Eiweisshaltiger Harn wird zunächst durch Kochen unter Essigsäurezusatz von Eiweiss befreit. Seröse Flüssigkeiten werden nach dem Neutralisiren durch grossen Ueberschuss von Alkohol gefällt. Man filtrirt ab, behandelt die Niederschläge mit Alkohol, dampft die vereinigten alkoholischen Filtrate zur Trockne ein, nimmt den Rückstand mit Alkohol auf und den Verdampfungsrückstand dieses alkoholischen Auszugs mit Wasser. Die filtrirte wässerige Lösung bezw. der (eiweissfreie) Harn wird mit Bleiessig und ein wenig Ammoniak gefällt, der abfiltrirte und mit etwas Wasser gewaschene Niederschlag mit Alkohol gekocht und die heiss filtrirte Lösung, welche die Bleisalze der Gallensäuren enthält, mit einigen Tropfen Sodalösung versetzt und im Wasserbade zur Trockne verdunstet. Der Rückstand wird mit abs. Alkohol ausgekocht, die Lösung auf ein kleines Volumen eingeengt, mit einem Ueberschuss von Aether versetzt und in einem verschlossenen Gefäss zur Krystallisation (gallensaure Natronsalze) stehen gelassen. Handelt es sich nur darum, die Anwesenheit von Gallensäuren festzustellen, so kann man, ohne die Krystallisation abzuwarten, den harzigen Niederschlag in Wasser lösen und die Reactionen anstellen. Will man aber erfahren, ob Glykocholsäure, Taurocholsäure oder Cholsäure vorliegt, so lässt man die durch Aether gefällten Natronsalze am Besten zunächst krystallisiren, giesst den Aether ab, löst die Krystalle in wenig Wasser und benutzt das verschiedene Verhalten der Gallensäuren gegen Bleizucker zur Trennung. Durch Bleizucker werden Glykocholsäure und Cholsäure gefällt, während nur sehr geringe Mengen von Taurocholsäure mitgerissen werden, wenn die Flüssigkeit nicht stark

alkalisch ist. Nach der Ausfällung dieser Säuren kann die Taurocholsäure durch Bleiessig und etwas Ammoniak gefällt werden. Die Weiterbehandlung der Bleiniederschläge geschieht in der oben angegebenen Weise.

Eigenschaften. Die Taurocholsäure krystallisirt in feinen, seideglänzenden, an der Luft schnell zerfliesslichen Nadeln, die in Wasser und in Alkohol sehr leicht, in Aether unlöslich sind und bitter süsslich schmecken. Ihre wässerigen Lösungen reagiren stark sauer und zersetzen sich beim Abdampfen zur Trockne. Sie ist überhaupt, auch in ihren Verbindungen, viel zersetzlicher als die Glykocholsäure. Das Natriumsalz, in oben angegebener Weise dargestellt, krystallisirt in feinen Nadeln, dem glykocholsauren Natron sehr ähnlich. Das Barytsalz ist in Wasser leicht löslich, auch die meisten übrigen Salze sind leicht löslich, so dass auf Zusatz von Kupfersulfat, Silbernitrat und Bleiacetat zur Lösung der Alkalisalze kein Niederschlag entsteht. Bleiacetat + Ammoniak fällen sie vollständig.

Optische Eigenschaften. Sie dreht rechts und zwar ist für die alkoholische Lösung des Natronsalzes $[\alpha]_D = + 24{,}5^0$. In wässeriger Lösung ist die specifische Drehung geringer. Die Concentration ist ohne Einfluss (Hoppe-Seyler a. a. O.)

Zersetzung. Durch Kochen mit verdünnten Säuren oder Alkalien, auch schon mit Wasser allein zerfällt die Taurocholsäure in Taurin und Cholsäure. Die Spaltung erfolgt viel leichter wie die der Glykocholsäure. Die gleiche Zersetzung erleidet sie bei der Fäulniss in der Galle und im Darmcanal.

Nachweis. Für den Nachweis gilt das im vorigen Paragraphen bei der Glykocholsäure Gesagte. Zur Unterscheidung von Glykocholsäure dient der Schwefelgehalt, auf den man nach § 55 prüft. Die Alkohollöslichkeit einer Substanz, ihr Schwefelgehalt und der positive Ausfall der Pettenkofer'schen Reaction sind beweisend für Taurocholsäure. (Etwa vorhandene Schwefelsäure muss vor Anstellung der Prüfung auf Schwefel durch Fällung mit Barytwasser entfernt werden.) Um die beiden Spaltungsproducte der Taurocholsäure nachzuweisen, kocht man 12 Stunden mit heiss gesättigtem Barytwasser (am Besten im zugeschmolzenen Rohr im Wasserbade), leitet Kohlensäure hindurch, verdampft zur Trockne, extrahirt den Rückstand zuerst mit kaltem Wasser, kocht ihn dann mit Wasser aus und filtrirt heiss. Den Kaltwasserauszug prüft man nach § 157 auf Taurin, den Heisswasserauszug nach § 236 auf Cholsäure.

248. **Glykohyocholsäure** wurde von Strecker und Gundlach[1]) aus der Schweinegalle erhalten durch Abscheidung ihres Natriumsalzes mittelst Sättigung der Galle mit Natriumsulfat, Lösen des mit gesättigter Glaubersalzlösung ausgewaschenen Niederschlags in Wasser, Ausfällen der Säure mit Salzsäure. Daneben enthält die Schweinegalle nach Jolin[2]) noch das Natriumsalz einer anderen Säure u. z. in grösserer Menge. Dieses Salz wird durch Natriumsulfat weniger leicht und nur unvollständig abgeschieden und kann infolgedessen abgetrennt werden. Ueber das sehr umständliche

[1]) Ann. Chem. Pharm. **62**. 205. (1847.)

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **12**. 512. (1888.) u. **13**. 205. (1889.)

Isolirungsverfahren siehe Jolin. J. nennt die von St. und G. gefundene Säure α-Glykohyocholsäure, die von ihm gefundene β-Glykohyocholsäure. Ausserdem ist noch eine Taurin enthaltende Gallensäure vorhanden, deren Darstellung aber bisher nicht gelang.

α-Glykohyocholsäure $C_{27}H_{43}NO_5$ löst sich nicht in Wasser, wenig in Aether, leicht in Alkohol. Sie ist harzig und krystallisirt nur sehr schwierig, schmeckt bitter und dreht rechts. In alkoholischer Lösung betrug $[\alpha]_D = + 9{,}7^0$. Sie verbindet sich mit Alkalien zu in Wasser löslichen Salzen. Die Lösungen dieser Salze werden durch Laugen und durch gesättigte Salzlösungen z. B. Natriumsulfat ausgefällt u. z. unter Bildung fein gefalteter Häutchen. Die Salze der alkalischen Erden sind in Wasser schwer löslich. Fluorescenz- und Pettenkofer'sche Reaction (§ 236, 2 u. 3) fallen positiv aus.

β-Glykohyocholsäure $C_{26}H_{43}NO_5$ (?) hat bisher nicht frei von Beimengung einer Taurinverbindung dargestellt werden können. Sie ist der α-Säure sehr ähnlich, aber weniger leicht als Alkalisalz durch conc. Neutralsalzlösungen fällbar.

Beim Kochen mit Alkalien werden beide Säuren in Glykocoll und α- bezw. β-Hyocholsäure (§§ 242 und 243) gespalten.

249. **Taurochenocholsäure**[1]) findet sich in der Gänsegalle. Zur Darstellung des Natronsalzes wird die Galle mit Alkohol ausgezogen, die alkoholische Lösung mit Aether gefällt, der pflasterartige Niederschlag mit einer conc. Natriumsulfatlösung gewaschen und nach dem Trocknen in abs. Alkohol gelöst, schliesslich die klar filtrirte Lösung mit Aether gefällt. Nach längerem Stehen setzen sich kleine rhombische Tafeln des Natronsalzes $C_{29}H_{50}NSO_7Na$ ab. Bei 140^0 getrocknet verliert es ein Mol. Wasser. Um aus diesem Salze die freie Säure zu gewinnen, fällt man seine wässerige Lösung mit Bleiessig, zertheilt den abfiltrirten Niederschlag in Alkohol, zerlegt ihn durch Schwefelwasserstoff und dampft das Filtrat ein. Dabei scheidet sich etwas unlösliche Paratauro-chenocholsäure (?) ab. Die freie Säure krystallisirt nicht, sie löst sich leicht in Wasser und Alkohol. Durch anhaltendes Kochen mit Barytwasser wird sie in Taurin und Chenocholsäure (§ 244) gespalten. Pettenkofer'sche Reaction positiv (§ 236, 3).

250. **Guanogallensäure**[2]). Im Peru-Guano findet sich eine Gallensäure, welche durch Wasser ausgezogen und mit Salzsäure gefällt wird. Alkohol löst sie auf und man erhält sie nach Entfärben mit Blutkohle beim Abdampfen der alkoholischen Lösung als amorphe, gelbliche, in Wasser unlösliche Masse, welche etwas Stickstoff, aber keinen Schwefel enthält. Das Natronsalz ist leicht löslich in Wasser, das Barytsalz etwas schwerer, beide lösen sich leicht in Alkohol. Die Fluorescenz- und die Pettenkofer'sche Reaction (§ 236, 2 u. 3) fallen positiv aus.

251. **Scymnolschwefelsäure.** Unter diesen Namen beschreibt Hammarsten[3]) zwei Aetherschwefelsäuren, welche an Stelle anderer Gallensäuren in der Galle des Haifisches (Scymnus borealis) und wahrscheinlich auch einer Roche (Raja batis) als Natriumsalze enthalten sind. Ueber die Darstellung siehe a. a. O. S. 324 u. S. 335.

Das Natriumsalz der α-Säure (in viel grösserer Menge als das der β-Säure vorhanden) ist gewöhnlich amorph, lässt sich aber unter gewissen Bedingungen als feines sandiges Pulver radiär gestreifter Kügelchen erhalten. Es hat sich bisher noch nicht von einer geringen Menge einer stickstoffhaltigen Beimengung trennen lassen, so dass über die Zusammensetzung nichts Bestimmtes zu sagen ist. Es löst sich leicht in Wasser, Aethyl- und Methylalkohol. Völlig trocken zersetzt es sich bei etwa 130^0. Seine wässerige Lösung ist farblos, schmeckt bitter süss und wird von Eisenchlorid, Bleiessig und durch das gleiche Vol. 40 proc. Kalilauge gefällt. Das Salz giebt die

---

1) Heintz u. Wislicenus, Pogg. Ann. **108**. 547. (1859.)
R. Otto, Zeitschr. f. Chem. 1868. 633.

2) Hoppe-Seyler, Arch. f. path. Anat. **26**. 525. (1863.)

3) Zeitschr. f. physiol. Chem. **24**. 322. (1898.)

Pettenkofer'sche und die Fluorescenz-Probe (§ 236, 3 u. 2), seine Lösung in 25 proc. Salzsäure bei Zimmertemperatur färbt sich innerhalb einiger Minuten prachtvoll indigoblau. Beim Erhitzen mit Säuren und Alkalien zerfällt es in Schwefelsäure und α-Scymnol. Um das α-Scymnol zu isoliren, erhitzt man mit Barytwasser oder 10 proc. Kalilauge und kocht den dabei entstehenden Niederschlag mit Wasser aus. Beim Erkalten scheidet sich das α-Scymnol als rein weisse Flöckchen feiner Krystallnadeln ab. Es enthält C 71,79 pCt.; H 10,39 pCt.; O 17,82 pCt. und entspricht wahrscheinlich der Formel $C_{27}H_{46}O_5$. Es ist in kaltem Wasser sehr schwer löslich, etwas leichter in siedendem, in Alkohol, Aether, Aceton leicht löslich, in verdünnten Säuren und Alkalien unlöslich, schmilzt bei 100—101° ohne Zersetzung zu glasiger, durchsichtiger Masse, zersetzt sich erst über 135°. Es giebt die oben angeführten Reactionen der α-Säure, ferner die Liebermann-Burchard'sche Cholesterinreaction, nur mit dem Unterschied, dass die grüne Farbe nicht auftritt, dagegen nicht die Salkowski'sche Cholesterinreaction. Beim Kochen mit Salzsäure wird es in harzähnliche, amorphe Producte verwandelt, die die Pettenkofer'sche Reaction noch geben. α-Scymnol.

Das Natriumsalz der β-Säure, eine amorphe harzige Masse, bisher noch nicht in reinem Zustand erhalten, ist ebenfalls in Wasser leicht löslich, seine wässerige Lösung schmeckt bittersüss, wird auch durch Eisenchlorid und Bleiessig, nicht aber durch gleiches Vol. 40 proc. Kalilauge gefällt. Es giebt die Pettenkofer'sche Reaction, aber mit 25 proc. Salzsäure keine blaue, sondern eine allmählich grün und bräunlichgrün werdende Lösung. Beim Kochen mit Alkalien liefert es Schwefelsäure und β-Scymnol, von dem nur eine Analyse ausgeführt wurde, welche die Formel $C_{29}H_{50}O_5$ ergab. Letzteres ist ein amorpher Körper, der in siedendem Wasser noch schwerer löslich ist als das α-Scymnol, im Uebrigen aber dieselben Lösungsverhältnisse zeigt wie dieses. Es giebt mit Salzsäure dieselbe Reaction wie die β-Säure. β-Scymnol.

Ausser diesen beiden Säuren ist in sehr geringer Menge noch eine dritte, die γ-Säure, vorhanden, deren Alkalisalz in weissen, zu Ballen vereinigten Nadeln krystallisirt, mit Kupfersulfat, Bleiacetat, Bariumchlorid und mit Essigsäure und Salzsäure Niederschläge giebt, bittersüss schmeckt und die Pettenkofer'sche und Fluorescenz-Reaction zeigt. Ob sie Schwefel enthält, ist nicht untersucht.

Die Farbstoffgruppen der Blutfarbstoffe.

252. Die Blutfarbstoffe (siehe diese) werden durch Säuren und Alkalien in Globin und die Farbstoffgruppe zerlegt u. z. entsteht aus den Hämoglobinen neben Eiweiss Hämochromogen (§ 253), aus den Oxyhämoglobinen neben Eiweiss Hämatin (§ 254). Ersteres geht bei Anwesenheit auch nur geringer Mengen von freiem Sauerstoff sofort in Hämatin über, bei Abwesenheit von Sauerstoff ist es in alkalischer Lösung beständig, wird aber in saurer Lösung bald unter Abspaltung von Eisen in Hämatoporphyrin (§ 256) übergeführt. Dieser letztere Farbstoff entsteht auch aus Hämatin durch energischere Säurewirkung.

253. **Hämochromogen**[1]) ist nur als Zersetzungsproduct des Hämoglobins oder Reductionsproduct des Hämatins bekannt. Vorkommen.

Hämochromogen bildet sich sehr häufig in Spirituspräparaten von Pancreas, Leber, Milz, Muskeln. Uebergiesst man die Organe im Ganzen oder nach ihrer Zerkleinerung mit Alkohol und lässt ohne Umrühren einige Tage stehen, so erscheinen die unteren

[1]) Hoppe-Seyler, Med. chem. Unters. Heft 4. S. 540. (1871.)

Schichten rosenroth bis purpurroth, die oberen grau bis bräunlich und die spectroskopische Untersuchung des reflectirten Lichtes ergiebt in den rothen, unteren Schichten die Spectralstreifen des Hämochromogens mit aller Schärfe. Bringt man sie an die Luft, so werden sie bald oberflächlich graubraun durch Hämatinbildung. Uebergiessen mit Aether wirkt ähnlich wie Alkohol, und so sind wahrscheinlich die Angaben von Struve[1]) zu erklären. Bei längerem, ruhigen Stehen unter Alkohol verliert sich die Hämochromogenfärbung langsam von oben nach unten entsprechend dem Sauerstoffzutritt und Aufhören der Fäulniss durch Diffusion des Alkohols.

Darstellung. Eine Darstellung des Hämochromogens ist wegen seiner grossen Affinität zu Sauerstoff bis jetzt nicht gelungen. Seine Ammoniakverbindung gewann v. Zeynek[2]) als rothe bis braunrothe Substanz durch Reduction von in alkoholischem Ammoniak suspendirtem Hämatin mit alkoholischem Hydrazin in einem besonders construirten Apparate. Die Verbindung hatte die Zusammensetzung C 63,83; H 5,66; N 11,48; Fe 9,25 pCt. Eine alkalische Lösung von Hämochromogen erhält man durch Versetzen einer alkalischen Hämatinlösung mit einem Reductionsmittel z. B. Schwefelammonium, Stokes'sche Lösung (Anh.), Hydrazinhydrat. Erhitzt man Hämoglobin in hinreichend starkem Alkali auf 100° bei Abwesenheit von Sauerstoff, so scheidet sich Hämochromogen als violett-grauer, pulveriger*) Niederschlag ab. Beim Erkalten löst er sich theilweise oder vollständig wieder.

Spectrum. Eine alkalische Lösung zeigt schön kirschrothe Farbe und bei genügender Verdünnung zwei sehr deutliche Absorptionsstreifen (siehe Spectraltafel), von denen der eine tief schwarze mit seiner Mitte einer Wellenlänge von 556,4 entspricht und fast in der Mitte zwischen D und E liegt, der andere nicht so dunkle und bei der Verdünnung der Lösung früher verschwindende mit seiner Mitte einer Wellenlänge von 520,4 entspricht und den Zwischenraum zwischen E und b ausfüllt noch etwas über b hinüberreichend[3]). Auch bei starker Concentration der Lösung zeigen sich bei der spectroscopischen Betrachtung keine anderen Streifen und das blaue Licht bis G hin ist sehr wenig absorbirt. Ueber Absorptionserscheinungen im violetten und ultravioletten Theil des Spectrums siehe Gamgee[4]).

Zersetzung. Bei Gegenwart von Sauerstoff geht es sofort unter Veränderung der Farbe der Lösung in Hämatin über. Selbst verdünnte Säure in alkoholischer Lösung entziehen dem Hämochromogen auch bei gewöhnlicher Temperatur sehr bald das Eisen und es bildet sich das an der Luft beständige Hämatoporphyrin.

Kohlenoxydhämochromogen. Kohlenoxydhämochromogen[3]) wird aus Kohlenoxydhämoglobin bei

---

*) Die Angabe von Hoppe-Seyler (Zeitschr. f. physiol. Chem. **13.** 495), es auf diese Weise krystallisirt erhalten zu haben, scheint von ihm selbst nicht aufrecht erhalten worden zu sein.

1) Ber. d. d. chem. Ges. **9.** 623. (1876.)

2) Zeitschr. f. physiol. Chem. **25.** 492. (1898.)

3) Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. physiol. Chem. **13.** 477. (1889.)

4) Zeitschr. f. Biol. **34.** 505. (1896.)

Abwesenheit von Sauerstoff durch Einwirkung von Alkali gebildet und bei der Erhitzung auf 100° aus dieser Lösung abgeschieden; es löst sich nach dem Erkalten allmählich wieder auf. Die Absorptionserscheinungen sind übereinstimmend mit denen des Kohlenoxydhämoglobins. Es giebt beim Erhitzen im Wasserstoffstrome das Kohlenoxyd ab und geht in Hämochromogen über.

254. **Hämatin**, nur als Zersetzungsproduct des Oxyhämoglobins oder Oxydationsproduct des Hämochromogens bekannt, findet sich häufig im Darmcanal, wo es durch die Einwirkung des Magensaftes auf den Blutfarbstoff der Speisen oder auf ausgetretenes Blut gebildet wird oder wohin es bereits präformirt in den Speisen gelangt. Bei Fleischnahrung wird es daher stets in den Fäces angetroffen. Selten kommt es in alten Blutextravasaten vor. Vorkommen.

Die Darstellung des Hämatins direct aus Blut oder Blutfarbstoff hat bedeutende Schwierigkeiten zu überwinden. Hoppe-Seyler schlug vor, es durch Schütteln von defibrinirtem Blut mit Aether, Zusatz von starker Essigsäure, wiederholtes Schütteln, Abgiessen und Filtriren der dunkelbraunen ätherischen Lösung, sofort nachdem sie sich abgeschieden hat, Stehenlassen, Abfiltriren des ausfallenden Niederschlags und Waschen desselben mit Aether, Alkohol und Wasser zu gewinnen. v. Zeynck[1]) erhielt es durch Verdauung von in Wasser gelöstem Oxyhämoglobin mit Pepsinsalzsäure und starkes Verdünnen der verdauten Lösung mit 0,4 proc. Salzsäure als braunen, schlammartigen Niederschlag, der durch Verrühren mit 1 proc. Salzsäure von beigemengten Schollen befreit und durch Dekantiren mit Wasser gereinigt wurde. Am Einfachsten stellt man Hämatin aus Häminkrystallen (vergl. den folgenden Paragraphen) dar. Die reinen Krystalle werden in äusserst verdünnter reiner Kalilauge kalt gelöst, die filtrirte Lösung wird mit verdünnter Salzsäure gefällt und der flockige, braune Niederschlag mit heissem Wasser gewaschen, bis das ablaufende Wasser keine Chlorreaction mehr giebt (es ist langes Auswaschen erforderlich*). Das Hämatin wird dann erst bei mässiger Wärme, endlich bei 120—150° getrocknet. Darstellung. Darstellung aus Häminkrystallen.

Das Hämatin, dargestellt aus Hämin, das nach dem Verfahren von Nencki und Sieber oder von Schalfejeff (siehe folgenden Paragraphen) gewonnen ist, hat die Zusammensetzung $C_{32}H_{32}N_4FeO_4$ (Nencki und Sieber[2]) u. A.[3]). Zusammensetzung.

---

*) Da nach neueren Angaben die völlige Abspaltung des Chlors durch einmaliges Lösen in Alkali nicht gelingt, empfiehlt es sich Lösen und Fällen zu wiederholen.

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **30**. 126. (1900.)

2) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **18**. 401. (1884.)

3) Bialobrzeski, Ber. d. d. chem. Ges. **29**. 2842. (1896.)
v. Zeynek, Zeitschr. f. physiol. Chem. **25**. 503. (1898.)
Küster, Ebendas. **28**. 15. (1899.)

Hoppe-Seyler[1]) fand für Hämatin, das aus einem nach seinem Verfahren erhaltenen Hämin dargestellt war, $C_{34}H_{35}N_4FeO_5$.

Eigenschaften. Es besitzt blauschwarze Farbe und lebhaften Metallglanz, ist nicht erkennbar krystallisirt, giebt aber so wie manches in Glanz und Farbe ihm ähnliche Rothgiltigerz einen braunen Strich auf Porzellan und fein pulverisirt ein dunkelbraunes Pulver, ist somit pleochromatisch. Es kann auf 180° erhitzt werden, ohne dass es sich zersetzt; sehr stark erhitzt verkohlt oder verglimmt es, ohne zu schmelzen und sich aufzublähen, unter Entwickelung von Blausäure und lässt in der Form der Stücke, die zum Versuche verwendet wurden, ein Skelett von reinem (auch manganfreiem) Eisenoxyd (ungefähr 13 pCt. des Hämatins betragend) zurück. Es ist unlöslich in Wasser, Alkohol, Aether, Chloroform, ein wenig löslich in Eisessig, besonders in der Wärme. In säurehaltigem Alkohol löst es sich in geringer Menge auf, gar nicht in wässerigen säurehaltigen Flüssigkeiten; es löst sich ferner in allen Alkalilösungen, auch sehr verdünnten, selbst in Alkohol beim Zusammenschütteln mit kohlensaurem Alkali. Die alkalischen Lösungen erscheinen in dickeren Schichten in durchfallendem Lichte schön roth, in dünner Schicht olivengrün, die sauren Lösungen in jeder Dicke der Schicht braun gefärbt. Alkalische Lösungen von Hämatin werden durch Kalk- oder Barytsalze in rothbraunen Flocken gefällt, auch Niederschläge von phosphorsaurem Kalk nehmen Hämatin aus Lösungen in sich auf. Auf dieser letzteren Eigenschaft beruht eine Methode des Nachweises von Blut im Harn (siehe „Untersuchung des Harns"). Auch Bleiacetat fällt bei vorsichtigem Zusatz Hämatin aus seinen Lösungen.

Spectrum: Die sauren und alkalischen Lösungen absorbiren am Wenigsten das äusserste Roth im Spectrum bis etwa zur Linie B, am Stärksten das

in alkalischer Lösung. violette Licht. Eine alkalische Lösung zeigt bis zu einer Concentration von 0,015 g Hämatin in 100 ccm bei einer Dicke der Flüssigkeitsschicht von 1 ccm einen schlecht begrenzten Absorptionsstreifen zwischen den

in saurer Lösung. Linien C und D, letzterer Linie anliegend. Eine saure Lösung (in schwefelsäurehaltigem Alkohol) zeigt einen Absorptionsstreifen nahe bei C zwischen dieser Linie und D (siehe Spectraltafel); ein anderer weniger scharf begrenzter, viel breiterer und bei weiterer Verdünnung etwas früher verschwindender, findet sich zwischen D und F. Dieser letztere Streifen zerlegt sich bei vorsichtiger Verdünnung der Flüssigkeit zunächst in zwei ungleich dunkle Bänder; das neben F befindliche ist dunkler, der hellste Zwischenraum zwischen E und b. Ein sehr schmaler, schwacher Streifen erscheint bei gewisser Verdünnung zwischen D und E, dicht neben D, so dass in diesem Falle vier Streifen vorhanden sind. Ueber Absorptionserscheinungen im violetten und ultravioletten Theil des Spectrums siehe Gamgee (a. a. O.).

[1]) Med. chem. Unters. Heft 4. S. 525. (1871.)

Durch Behandlung mit Reductionsmitteln z. B. Schwefelammonium, Stokes'sche Lösung (Anh.), Hydrazinhydrat verändert die Hämatinlösung ihre Farbe und bei der Spectraluntersuchung sieht man die Streifen des Hämochromogens (§ 253). Fügt man zu einer alkalischen Hämatinlösung Cyankalium, so wird die Lösung durchsichtiger rothbraun, absorbirt am Schwächsten das Licht zu beiden Seiten der Linie C und zeigt beim Verdünnen einen schlecht begrenzten Absorptionsstreifen zwischen D und E. Veränderung d. Spectrums durch Reductionsmittel und durch Cyankalium.

In ammoniakalischer Lösung scheint sich das Hämatin allmählich zu verändern; beim Eintrocknen einer solchen Lösung bei 100° wird Ammoniak hartnäckig zurückgehalten in einer Verbindung, die sich in Wasser leicht auflöst. Auch durch Einwirkung von verdünntem Alkali in der Wärme und allmählich auch in der Kälte erleidet Hämatin Veränderungen[1]). Durch Kochen mit conc. Kalilauge erfährt es dagegen keine bemerkbare Aenderung, beim Schmelzen mit Kali entweicht Ammoniak, doch geht die Zerlegung sehr langsam vor sich. Auch durch Erhitzen mit starker Salzsäure wird das Hämatin erst über 150° zersetzt, verdünnte Salpetersäure greift es auch beim Kochen schwer an; sehr schnell wird es unter Entfärbung zersetzt, wenn Chlor in seine alkalische Lösung eingeleitet wird. In conc. Schwefelsäure löst es sich zu einer dunkelrothen Flüssigkeit ohne Gasentwickelung, indem sich Hämatoporphyrin (§ 256) bildet, bei der Oxydation mit Natriumbichromat in Eisessig entsteht Hämatinsäure (§ 259), bei der Reduction durch Zinn- und Salzsäure ein dem Urobilin nahestehender Farbstoff. Trocken erhitzt bildet es reichlich Pyrrol. Zersetzungen.

Der Nachweis beruht auf seinen Lichtabsorptionserscheinungen, besonders auf der Beobachtung des charakteristischen Spectrums des Hämochromogens (§ 253), das aus Hämatin durch Reductionsmittel entsteht. Von Hämoglobin und Oxyhämoglobin trennt man es durch seine Fällbarkeit durch Bleiacetat. Nachweis.

255. **Haemin (Hämatinsalzsäureester).** Die von Teichmann zuerst beobachteten Häminkrystalle erhält man im Kleinen durch Kochen einiger Tropfen Blut im Reagensglase mit überschüssigem Eisessig oder durch Eindampfen eines Tropfens Blut mit 12 bis 20 Tropfen Eisessig nach einmaligem Aufkochen über kleiner Flamme auf dem Wasserbade. Von Hoppe-Seyler[2]) wurden die Haeminkrystalle zuerst in grösserem Massstabe nach einem dem Teichmann'schen Eisessigverfahren sich anschliessenden dargestellt, analysirt und untersucht. Andere Methoden sind von Nencki u. Sieber, Schalfejeff, K. A. H. Mörner angegeben. Darstellung:

1. Verfahren von Nencki u. Sieber[3]). Blutkörperchenbrei, wie er sich aus einer Mischung von defibrinirtem Blut mit dem neunfachen Volumen 4proc. Kochsalzlösung absetzt, wird mit soviel (etwa dem doppelten Vol.) 90proc. Alkohol unter Umrühren ver- nach Nencki und Sieber.

[1]) Küster, Zeitschr. f. physiol. Chem. **28**. 15. (1899.)

[2]) Med. chem. Unters. Heft 3. S. 379. (1868) u. Heft 4. S. 523. (1871.)

[3]) Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm. **18**. 401. (1884.) Bialobrzeski, a. a. O.

mischt, bis die Flüssigkeit zu einem Coagulum erstarrt, das nach 24 Stunden abfiltrirte Coagulum auf Fliesspapier zum Trocknen ausgebreitet, nach 24stündigem Liegen (es hat jetzt ungefähr 34—37 pCt. Trockenrückstand) fein zerrieben und in kleinen Portionen zu je 400 g mit dem 4fachen Gewicht reinen Amylalkohols (S.-P. 130°) im Kolben auf dem Sandbade zum Kochen erhitzt. Sobald die Flüssigkeit ins Sieden geräth, wird sie mit 25 ccm reiner Salzsäure (1,12 spec. Gew.) versetzt, noch 7—10 Minuten im Sieden erhalten und dann heiss filtrirt. Nach 24 Stunden giesst man von den an Boden und Wandungen abgeschiedenen Krystallen ab, mischt den Krystallbrei mit 90proc. Alkohol, bringt ihn auf ein Filter, entfernt den Amylalkohol durch Waschen mit Aethylalkohol, schüttelt den Filterrückstand mit Chloroform, bringt wieder auf ein Filter, wäscht mit Chloroform, bis das Filtrat nur wenig gefärbt abläuft, dann mit Alkohol, dann mit kaltem Wasser bis zum Verschwinden der Chlorreaction, darauf mit Alkohol und Aether und trocknet im Vacuum. Ausbeute bis zu 1 g aus einem Liter Blut.

Wesentlich bessere Ausbeuten geben die beiden folgenden Verfahren.

nach Schalfejeff. 2. Verfahren von Schalfejeff in der Ausführung von Nencki und Zaleski[1]). In einen Liter Eisessig wird pulverisirtes Kochsalz bis zur Sättigung bei Zimmertemperatur eingetragen und die Lösung auf dem Wasserbade auf 90—95° erwärmt. Der heissen Lösung wird 200 ccm frisches, defibrinirtes und durch Musselin filtrirtes Blut zugesetzt, die Mischung unter häufigem Umrühren noch 10 Min. auf dem Wasserbade erwärmt und, wenn die Temperatur der Lösung wieder 85—90° erreicht hat, durch Musselin in hohe Bechergläser filtrirt. Nach 24stündigem Stehen wird die Essigsäure abgegossen und der Bodensatz von Krystallen wiederholt mit Wasser dekantirt, schliesslich auf dem Filter mit Wasser, dann mit 60—70 proc. Alkohol nachgewaschen und im Vacuum getrocknet. Zum Umkrystallisiren werden 15 Vol. 96 proc. Alkohol mit 4 Vol. Wasser und 1 Vol. wässerigem Ammoniak (spec. Gew. 0,91) versetzt und 40—60 ccm davon für je 1 g Hämin verwendet. Nach $1/4$ bis $1/2$ Stunde bei Zimmertemperatur und häufigem Umschütteln ist die Hauptmenge gelöst; die filtrirte Lösung wird in auf 105—115° erwärmten, mit Kochsalz gesättigten Eisessig in kleinen Portionen eingetragen (4—6 Vol. Eisessig auf 1 Vol. der ammoniakalischen Lösung). Die ausgeschiedenen Krystalle werden mit 2 pM. Salzsäure enthaltendem Wasser, hierauf stufenweise mit verdünntem (bis zu 80 proc.) Alkohol, dem 2 pM. Salzsäure zugesetzt sind, gewaschen und im Vacuum getrocknet. Ausbeute 3,5—4 g aus 1 Liter Blut.

nach Mörner. 3. Verfahren von K. A. H. Mörner[2]). 1 Liter Blut wird mit 3 Liter Wasser gemischt und nach Zusatz von 10 ccm 1 proc. Schwefelsäure bis zum lebhaften Aufwallen erhitzt, das Coagulum wird colirt, ausgewaschen und scharf abgepresst, dann wird mit ca. $1/2$ Liter 90 proc. Alkohols angerieben und wieder scharf abgepresst. Jetzt wird der Blutkuchen mit 1750 ccm 90 proc. Alkohols, dem ein erkaltetes Gemisch von 17,5 ccm

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **30**. 389. (1900.)

2) Nordiskt Medic. Arkiv. Festband No. 1 u. Nr. 26. (1897.)
Zeitschr. f. physiol. Chem. **29**. 187. Anmerkg. 3. (1900.)

conc. Schwefelsäure und 17,5 ccm 90 proc. Alkohols zugesetzt ist, verrieben und bei Zimmertemperatur eine Stunde digerirt, dann colirt, der Rest ausgepresst, die erhaltene, dunkel gefärbte Lösung filtrirt, das Filtrat rasch zum Sieden erhitzt und jetzt pro Liter Blut 8 ccm 25 proc. Salzsäure, die mit ca. 12 ccm 90 proc. Alkohols versetzt sind, eingetragen und durch Einstellen in kaltes Wasser abgekühlt. Nach zweitägigem Stehen wird der über dem abgesetzten Hämin stehende Alkohol abgegossen, der Krystallbrei abgesaugt, mit etwas Weingeist und dann mit Wasser gewaschen, in gelinder Wärme getrocknet und mit Petroläther behandelt. Ausbeute ca. 3 g aus 1 Liter Blut.

Zusammensetzung.

Während jede einzelne dieser Methoden, auf das Blut verschiedener Thiere angewandt, dasselbe Hämin giebt, stimmt das nach den verschiedenen Methoden dargestellte Hämin in seiner Zusammensetzung nicht überein. Die nach dem Verfahren von Nencki und Sieber erhaltenen Krystalle enthalten regelmässig Amylalkohol und zwar entspricht die Zusammensetzung der Formel $(C_{32}H_{31}N_4FeClO_3)_4 \cdot C_5H_{12}O$. Der Amylalkohol entweicht bei 135°. Diese Angaben von Nencki und Sieber erfuhren im Wesentlichen eine Bestätigung durch W. Küster[1]). Die nach Schalfejeff dargestellten Krystalle entsprechen der Formel $C_{34}H_{33}N_4FeClO_4$, unterscheiden sich also von den nach dem Amylalkoholverfahren erhaltenen durch die Acetylgruppe und werden von Nencki als Acethämin bezeichnet. Zu der sehr ähnlichen Formel $C_{34}H_{36}N_4FeClO_5$ gelangte Hoppe-Seyler. Die nach Mörner dargestellten Krystalle entsprechen der Formel $C_{35}H_{35}N_4FeClO_4$, unterscheiden sich also durch die Propionylgruppe. Mörner bezeichnet sie als β-Hämin. Nach Nencki und Zaleski sind sie als Monoaethyläther des Acethämins $C_{36}H_{37}N_4FeClO_4$ aufzufassen, wofür die Analysenzahlen ebenfalls sehr gut stimmen. Eine Erklärung für diese Verschiedenheiten in der Zusammensetzung ist noch nicht zu geben; es ist noch unentschieden, ob das Hämin ein Gemisch homologer (aus verschiedenen Hämatinen hervorgegangener) Körper darstellt, von denen durch die eine Methode das eine, durch die andere ein anderes isolirt wird, oder ob nur ein Hämatin existirt, aus dem durch die verschiedenen Darstellungsmethoden verschiedene Hämine entstehen.

Eigenschaften.

Die Häminkrystalle bilden ein seideglänzendes Krystallpulver von blauschwarzer Farbe und dem Metallglanz des Hämatins. Die mikroskopischen Krystalle sind oft lange, schmale, zugespitzte, rhombische Blättchen und nadelförmige Gebilde (die nach Schalfejeff dargestelltem dem triklinen System angehörig) im durchfallenden Licht von brauner Farbe, unlöslich in Wasser, in Aether nur spurenweise, in Alkohol und Chloroform nur wenig

---

[1]) Ber. d. d. chem. Ges. **27**. 572. (1894.) u. **30**. 109. (1897.)
Beiträge zur Kenntniss des Hämatins. Habilitationsschrift. Tübingen 1896.
Zeitschr. f. physiol. Chem. **28**. 10. (1899.)

löslich, leicht löslich in verdünnten Alkalien. Beim Erhitzen bis gegen 200° bleiben die Krystalle unverändert, an der Luft stärker erhitzt verglimmen sie unter Entwickelung von Blausäure und Hinterlassung eines Skeletts von Eisenoxyd. Reibt man Häminkrystalle mit conc. Schwefelsäure zusammen, so entwickelt sich Salzsäure. Das Chlor ist in esterartiger Bindung (vielleicht auch in Verbindung mit dem Eisen) u. z. in so lockerer, dass es schon beim Behandeln mit warmem Wasser theilweise herausgeht, völlig beim Lösen in Natronlauge (vergl. S. 277 * Anm.), indem es durch Hydroxyl ersetzt wird (Nencki). Dabei entsteht Hämatin. Bei dieser Behandlung verliert das Acethämin auch das Acetyl, denn das aus ihm entstehende Hämatin hat die gleiche Zusammensetzung, wie das, welches man aus dem nach dem Amylalkoholverfahren dargestellten Hämin erhält: $C_{32}H_{32}N_4FeO_4$. Das aus dem β-Hämin gewonnene Hämatin ist nicht untersucht.

256. **Hämatoporphyrin.** Aus Hämochromogen oder Hämatin oder Hämin können auf verschiedene Weise aber immer unter Einwirkung von Säuren eisenfreie Farbstoffe erhalten werden, die ihre Zusammengehörigkeit durch ihre Zusammensetzung, ihren Ursprung und vor Allem durch ihr spectroskopisches Verhalten erkennen lassen, die jedoch leicht veränderlich sind und von denen sich noch nicht sicher angeben lässt, in welcher Beziehung sie zu einander stehen. Der Name Hämatoporphyrin und die ersten eingehenden Untersuchungen stammen von Hoppe-Seyler[1]). Dieselben wurden von Nencki[2]) und seinen Mitarbeitern fortgeführt.

Vorkommen. Hämatoporphyrin findet sich im Magen- und Darminhalt bei Einführung von conc. Schwefelsäure in den Magen. Nach Garrod[3]) kommt es, wenn auch nur in Spuren, sehr wahrscheinlich in jedem normalen Harn vor. In Harnen von Kranken oder nach Arzneimitteleingabe (Sulfonal) ist es von Mac Munn, Neusser, Salkowski[4]), Hammarsten[5]) und vielen anderen nachgewiesen worden.

Darstellung. Aus Hämochromogen entsteht es bei Abwesenheit von Sauerstoff bezw. Anwesenheit von reducirenden Stoffen durch jede auch die schwächste Säure, langsamer erfolgt unter sonst gleichen Verhältnissen die Bildung aus Kohlenoxydhämochromogen. Zu seiner Gewinnung aus Hämatin oder Hämin bedarf es energischerer Säurewirkung. Die beste Darstellungsweise ist die von Nencki und Zaleski[6]) angegebene, welche zum krystallisirten salzsauren Salz führt: Je 5 g Hämin oder Acethämin (siehe § 255) werden

---

[1]) Med. chem. Unters. Heft 4. S. 523. (1871.)

[2]) Nencki u. Sieber, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **18**. 401. (1884.) **20**. 325. (1886.) **24**. 430. (1888.)

[3]) Journ. of Physiol. **13**. 598. (1892.) **15**. 108. (1894.) **17**. 349. (1895.)

[4]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **15**. 286. (1891.)

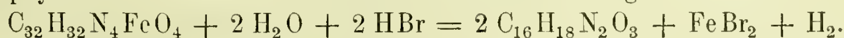
[5]) Skand. Arch. f. Physiol. **3**. 319. (1892.)

[6]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **30**. 423. (1900.)

in 75 ccm bei 10° C. mit Bromwasserstoff gesättigten Eisessig*) in kleinen Portionen und unter häufigem Umrühren eingetragen. Man lässt nun die Flüssigkeit 3—4 Tage bei Zimmertemperatur stehen, schüttelt öfters um, und giesst, wenn alles Hämin gelöst ist und die Lösung die schön rothe Farbe des Hämatoporphyrins angenommen hat, den Kölbcheninhalt in destillirtes Wasser. Nach mehrstündigem Stehen, wobei nur ein ganz geringer Bodensatz entsteht, wird filtrirt und die filtrirte Lösung so lange mit Natronlauge versetzt, bis aller Bromwasserstoff neutralisirt ist, wobei der in verdünnter Essigsäure unlösliche Farbstoff fast vollständig ausfällt. Man lässt absitzen und wäscht den Niederschlag durch Decantation so lange aus, bis das Filtrat mit Silbernitrat keinen Niederschlag mehr giebt. Der ausgewaschene Niederschlag wird, nachdem er durch Liegen auf Fliesspapier den grössten Theil des Wassers verloren, noch feucht mit reiner verdünnter Natronlauge auf warmem Wasserbade eine Viertelstunde digerirt, von dem abgeschiedenen Eisenoxydulsalz abfiltrirt und aus dem alkalischen Filtrat durch Essigsäure der Farbstoff gefällt. Das abgeschiedene Hämatoporphyrin wird jetzt von Neuem gut ausgewaschen, vom Filter abgehoben, mit wenig Wasser in einer Schale zu einem dicken Brei angerührt und unter Umrühren mit kleinen Portionen Salzsäure so lange versetzt, bis der Farbstoff in Lösung gegangen ist. Das salzsaure Hämatoporphyrin ist in Wasser leicht löslich, mit zunehmendem Gehalt an Säure nimmt die Löslichkeit bedeutend ab; es ist deshalb rathsam, nach erfolgter Lösung von dem geringen harzigen Rückstand abzufiltriren und dem Filtrate noch Salzsäure zuzusetzen. Sollte jetzt noch ein harziger Niederschlag entstehen, so filtrirt man von Neuem davon ab und stellt das Filtrat im Vacuum über Schwefelsäure zur Krystallisation auf. Gewöhnlich schon nach einigen Stunden erstarrt die Flüssigkeit in der Schale zu einem Krystallbrei. Man lässt jedoch noch 2 bis 3 Tage im Vacuum stehen, filtrirt hierauf auf einem Saugfilter ab und wäscht die Krystalle mit 10 proc. Salzsäure nach. Durch einmaliges Umkrystallisiren der auf obige Weise zwischen Fliesspapier getrockneten Krystalle wird das salzsaure Hämatoporphyrin chemisch rein erhalten.

Eigenschaften und Zusammensetzung.

Dieses salzsaure Hämatoporphyrin krystallisirt in braunrothen Nadeln von der Zusammensetzung $C_{16}H_{18}N_2O_3 . HCl$. Aus seiner schwach salzsauren Lösung wird das freie Hämatoporphyrin durch essigsaures Natron als braunrother, flockiger Niederschlag gefällt. Die Bildung des Hämatoporphyrins aus Hämatin lässt sich durch die Gleichung ausdrücken:



$$C_{32}H_{32}N_4FeO_4 + 2\,H_2O + 2\,HBr = 2\,C_{16}H_{18}N_2O_3 + FeBr_2 + H_2.$$

Das so dargestellte Hämatoporphyrin ist in fixen und kohlensauren Alkalien, verdünnten Mineralsäuren und Alkohol leicht löslich, in Wasser und verdünnter

*) Kann von Kahlbaum in Berlin bezogen werden.

Essigsäure fast unlöslich. In warmer Natronlauge gelöst scheidet es sich beim Erkalten als Natronsalz $C_{16}H_{17}NaN_2O_3 + H_2O$ in kleinen Krystalldrusen ab. Ueber weitere Salze und Ester siehe die Arbeiten von Nencki und seinen Mitarbeitern. Durch vorsichtigen Zusatz von Bleiacetat wird es aus seinen Lösungen gefällt.

Spectrum: in saurer Lösung. Die sauren Lösungen des Hämatoporphyrins zeigen schöne violette, concentrirtere kirschrothe Farbe und bei spectroskopischer Prüfung einen schmalen, nicht sehr dunklen Absorptionsstreifen zwischen C und D, dicht an D anliegend, und einen breiteren, dunklen Streifen zwischen D und E, näher an D als an E. in alkalischer Lösung. Die alkalischen Lösungen sehen zum Theil auch violett, zum Theil feurig roth bis braun aus; die braune Farbe findet man am häufigsten, sie entspricht aber wohl nicht den reinsten Lösungen. Spectroskopisch sind die alkalischen Lösungen ausgezeichnet durch 4 (oder bei passender Concentration 5) Absorptionsstreifen, von denen der erste zwischen C und D näher an D, der zweite und dritte zwischen D und E, jeder einer dieser Linien nahe, der vierte von b bis gegen F gelegen ist. Siehe beide Spectren in der Spectraltafel. Ueber Absorptionserscheinungen im violetten und ultravioletten Spectrum siehe Gamgee[1]).

Zersetzungen. Beim Kochen mit Natronlauge wird kein Ammoniak abgespalten, beim trocknen Erhitzen entwickelt sich Pyrrolgeruch. Bei der Oxydation mit Natriumbichromat in Eisessig entsteht Hämatinsäure (§ 259).

Aehnlichkeit mit Bilirubin. Das geschilderte Hämatoporphyrin hat die Zusammensetzung des Bilirubins, zeigt auch manche Aehnlichkeiten mit diesem, z. B. geht beim Uebergiessen mit rauchender Salpetersäure und gelindem Erwärmen die rothe Farbe in grün, blau und gelb über, ist aber mit ihm nicht identisch. Bei der Reduction mit Zinn- und Salzsäure entsteht ein dem Hydrobilirubin ähnlicher Farbstoff.

Hämatoporphyrine anderer Zusammensetzung. Durch Einwirkung von conc. Schwefelsäure auf Hämatin oder Hämin und nachheriges Eintragen der Lösung in Wasser wurden von Hoppe-Seyler und auch von Nencki und Sieber Hämatoporphyrine erhalten, welche zwar im spectroskopischen Verhalten mit dem beschriebenen ganz übereinstimmten, aber in ihren Löslichkeitsverhältnissen (sie waren wenig löslich oder unlöslich in verdünnten Säuren und in Alkohol) und der Zusammensetzung von ihm sich unterschieden. Hoppe-Seyler's Körper entsprach der Formel $C_{34}H_{36}N_4O_6$, mit der auch das dargestellte saure phosphorsaure Salz übereinstimmte, Nencki's der Formel $C_{32}H_{34}N_4O_5$. Nencki hält ihn für ein Anhydrid des oben beschriebenen.

Nachweis. Der Nachweis des Hämatoporphyrins geschieht mit Hülfe des Spectroskops. Von Hämoglobin und Oxyhämoglobin kann man es durch seine Fällbarkeit mittelst Bleiacetat trennen.

Ueber seinen Nachweis im Harne siehe „Untersuchung des Harns".

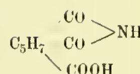
---

[1]) Zeitschr. f. Biol. **34**. 505. (1896.)

257. **Mesoporphyrin** nennen Nencki u. Zaleski[1]) einen Körper von der Zusammensetzung $C_{16}H_{18}N_2O_2$, der aus dem Hämin durch jodwasserstoffhaltigen Eisessig und Jodphosphonium gewonnen wird und seiner Zusammensetzung nach zwischen Hämatoporphyrin und dem Phylloporphyrin[2]) $C_{16}H_{18}N_2O$ steht. Rothes, mikroskrystallinisches Pulver, in seinen Eigenschaften dem Hämatoporphyrin sehr ähnlich, schmilzt nicht beim Erhitzen über 340°, unlöslich in Wasser, wenig löslich in Alkohol und Aether, besser in verdünnten Mineralsäuren, leicht in Alkalien. Spectroskopisch stimmt es völlig mit dem Hämatoporphyrin überein. $C_{16}H_{18}N_2O_2 \cdot HCl$ braunrothe, mikroskopische Nadeln, in heisser 2,5 proc. Salzsäure löslich. Die Krystalle des salzsauren Salzes und des freien Mesoporphyrins werden durch Wasser zersetzt. Durch Oxydation mit Salpetersäure oder Wasserstoffhyperoxyd entsteht ein grüner Farbstoff.

258. **Hämopyrrol** $C_8H_{13}N$ (Nencki u. Zaleski a. a. O.) entsteht bei der Einwirkung von jodwasserstoffhaltigem Eisessig und Jodphosphonium auf Hämin unter bestimmten relativen Verhältnissen als einziges Reductionsproduct. Es entsteht auch unter denselben Bedingungen aus Phyllocyanin, einem nahen Derivat des Chlorophylls[3]). Es ist eine flüchtige Substanz, die bei der Destillation als farbloses, auf dem Wasser schwimmendes Oel erhalten wird, aber sehr leicht zersetzlich ist und noch nicht analysenrein erhalten wurde. Sie löst sich in viel Wasser, in verdünnter Mineralsäure, nicht in Essigsäure und färbt einen mit Salzsäure befeuchteten Fichtenspahn intensiv roth. Ihre wässerige Lösung giebt mit Sublimatlösung einen in Wasser unlöslichen, in Alkohol löslichen, amorphen, weissen Niederschlag $(C_8H_{12}N)_2Hg \cdot (HgCl_2)_4$, mit warmer Pikrinsäure ein Pikrat, das sich beim Erkalten auf 0° in gelben Nadeln oder sechsseitigen Blättchen (Sm.-P. 108°) abscheidet $C_8H_{13}N \cdot C_6H_2(NO_2)_3OH$. An der Luft färbt sich das Hämopyrrol allmählich roth und nach 2 Tagen giebt die wässerige Lösung die Reactionen des Urobilins (§ 265): Rosafarbe mit grüner Fluorescenz auf Zusatz von Ammoniak und Chlorzink und Absorptionsstreifen zwischen b und F. Nach N. und Z. ist es höchstwahrscheinlich ein Isobutyl- oder Methylpropylpyrrol und steht in naher Beziehung zu den Hämatinsäuren.

259. **Hämatinsäuren.** Imid der dreibasichen Hämatinsäure $C_8H_9NO_4$. Diese Verbindung, wahrscheinlich ein Derivat der Maleïnsäure und nebenstehender Formel entsprechend, wurde von W. Küster[4]) als Oxydationsproduct des Hämatins erhalten und entsteht auch bei der Oxydation des Hämatoporphyrins[5]) und des Bilirubins[6]). Sie geht schon während der Darstellung theilweise in das Anhydrid der dreibasischen Hämatinsäure $C_8H_8O_5$, der wahrscheinlich untenstehende Formel zukommt, über.



Darstellung.

Zu seiner Darstellung wird Hämatin, wie es als feiner Schlamm beim Fällen einer alkalischen Lösung mit Säure gewonnen wird, bei ungefähr 50° in der 60fachen Menge Eisessig gelöst und portionsweise so viel gesättigte wässerige Natriumbichromatlösung eingetragen,

---

[1]) Ber. d. d. chem. Ges. **34**. 997. (1901.)

[2]) Schunk u. Marchlewski, Ann. Chem. Pharm. **284**. 81. (1895.) u. **290**. 306. (1896.)

[3]) Nencki u. Marchlewski, Ber. d. d. chem. Ges. **34**. 1687. (1901.)

[4]) Habilit.-Schrift. Tübingen 1896. Ber. d. d. chem. Ges. **32**. 677. (1899.) Zeitschr. f. physiol. Chem. **28**. 1. (1899.) Ann. Chem. Pharm. **315**. 174. (1901.)

[5]) W. Küster, Ber. d. d. chem. Ges. **30**. 105. (1897.), **32**. 677. (1899.) Zeitschr. f. physiol. Chem. **28**. 34. (1899.)

[6]) Ebendas. **26**. 314. (1899.) Ber. d. d. chem. Ges. **35**. 1268. (1902.)

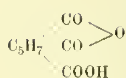
dass auf 1 Mol. Hämatin 12 At. Sauerstoff kommen. Bei einer Temperatur von ungefähr 50° ist die Reaction nach einem Tage beendet. Der Eisessig wird im Vacuum abdestillirt, der Rückstand mit heissem Wasser aufgenommen, und die Flüssigkeit unter Erneuerung des Wassers bis zur völligen Entfernung der Essigsäure erwärmt. Man filtrirt von einem dunkelbraunen Niederschlag ab, fügt die berechnete Menge Schwefelsäure hinzu, erhitzt wieder, bis die frei gewordene Essigsäure ausgetrieben ist, und extrahirt erschöpfend mit Aether. Die beim Verdunsten des Aethers hinterbleibende Rohsäure (Ausbeute ungefähr 50 pCt.) wird in der Kälte in Natriumcarbonat gelöst, die alkalische Lösung rasch dreimal mit Aether extrahirt und darauf sofort wieder angesäuert. Bei grösseren Mengen tritt hierbei eine Trübung ein, welche sich etwa in einem Tage absetzt, worauf die abgegossene klare Lösung ausgeäthert wird. Die nach Abdestilliren des Aethers hinterbleibende Säure wird nun am Besten in Wasser gelöst und diese Lösung von Neuem ausgeäthert. Die wässerige Lösung des Aetherrückstandes wird in der Kälte mit Calciumcarbonat behandelt, nach eintägigem Stehen abfiltrirt, das Filtrat mit Aether extrahirt und hierauf erhitzt, aber weder zu lange noch zu stark. Dabei scheidet sich das basische Kalksalz der Säure $C_8H_8O_5$ ab. Das Filtrat wird am Besten nochmals mit Calciumcarbonat behandelt und wiederum schwach erhitzt. Sobald kein Ausfall mehr stattfindet, wird die Lösung im Vacuum bei gewöhnlicher Temperatur eingedunstet und der Rückstand aus der etwa vierfachen Menge heissen Wassers umkrystallisirt. Es scheidet sich das Kalksalz der Verbindung $C_8H_9NO_4$ in zu Drusen vereinigten Nadeln ab, die im Vacuum getrocknet der Formel $(C_8H_8NO_4)_2Ca + H_2O$ entsprechen. Zersetzt man dies Kalksalz mit Salzsäure, schüttelt mit Aether aus und krystallisirt den Aetherrückstand zweimal aus der doppelten Menge heissem Essigester um, so erhält man das Imid der dreibasischen Hämatinsäure.

Eigenschaften des Imids.

Das Imid krystallisirt aus heissem Wasser in zu Drusen vereinigten Nadeln, ist in Wasser, Alkohol, Aether, namentlich in der Wärme sehr leicht löslich (in Wasser von Zimmertemperatur zu 4 pCt.), schmilzt, wenn bis 100° rasch erhitzt wird, bei 113,5—114,5°, giebt eine Reihe gut krystallisirender Salze[1]). Ueber das Kalksalz siehe oben.

Zersetzungen.

Es geht beim Erhitzen mit Natronlauge, Ammoniak oder 50 proc. Schwefelsäure unter Abspaltung von Ammoniak in das Anhydrid der dreibasischen Hämatinsäure über (siehe unten). Beim Erhitzen des Imids mit alkoholischem Ammoniak im Rohr auf 130° entsteht unter Kohlensäureabspaltung ein krystallisirender, in Aether und Alkohol leicht, in kaltem Wasser schwer löslicher, neutral reagirender bei 72,5° schmelzender Körper $C_7H_9NO_2$, der als Imid der zweibasichen Hämatinsäure aufzufassen ist und aus dem bei der Verseifung mit Barytwasser das Bariumsalz einer Säure hervorgeht, die in freiem Zustande nur als Anhydrid existirt. Dieses Anhydrid ist höchstwahrscheinlich mit dem Methyläthylmaleïnsäureanhydrid identisch.



Anhydrid der dreibasischen Hämatinsäure $C_8H_8O_5$. Krystallinisch, in Alkohol, Aether, Eisessig verhältnissmässig leicht, in heissem Wasser sehr leicht löslich. Sm.-P. 96—97°. Seine wässerige Lösung zersetzt die Carbonate der alkalischen Erden in der Kälte, beim Erhitzen der klaren Lösung scheiden sich die Salze (auf 4 Mol. $C_8H_8O_5$ 5 Atome Metall und wechselnde Mengen Wasser enthaltend) fast quantitativ ab. Mit alkohol. Ammoniak im zugeschmolzenen Rohr auf 100—110° erhitzt wird es in das Imid zurückverwandelt.

---

[1]) Ann. Chem. Pharm. **315**. 174. (1901.)

Gallenfarbstoffe.

Für die Abstammung der Gallenfarbstoffe von den Blutfarbstoffen, welche schon aus physiologischen Gründen nicht zu bezweifeln ist, sprechen auch die Resultate der chemischen Untersuchung, so z. B. die gleiche procentische Zusammensetzung von Bilirubin und Hämatoporphyrin, die Bildung von Hämatinsäure bei der Oxydation sowohl von Bilirubin als von Hämatin u. s. w. Die künstliche Umwandlung von Blutfarbstoff in Gallenfarbstoff ist noch nicht gelungen.

260. **Bilirubin** $C_{16}H_{18}N_2O_3$ findet sich an Kalk gebunden reichlich in den Gallensteinen, in geringer Menge und in freiem Zustande in der Galle von Menschen, Rindern, Pferden, Hunden, Katzen und allen Vertebraten, soweit die Untersuchungen reichen. Es kommt wohl stets im Dünndarminhalt vor und ist auch im icterischen Harn meist nachzuweisen. Die in alten Blutextravasaten aufgefundenen sog. Hämatoïdinkrystalle bestehen meistens aus Bilirubin und schliesslich findet sich dieser Farbstoff zuweilen in Cystenflüssigkeiten z. B. der Mamma und der Struma. Vorkommen.

Die Zusammensetzung und die Eigenschaften des Bilirubins sind von Staedeler[1]) festgestellt worden. Maly[2]) hat diese Angaben bestätigt und die Analysen von Hoppe-Seyler lassen gleichfalls keinen Zweifel an der Richtigkeit der Staedeler'schen Formel.

Zur Darstellung benutzt man Gallensteine von Rindern oder Menschen und verfährt nach Staedeler und Küster[3]) in folgender Weise: Das fein gepulverte Material wird nach völliger Extraction mit Aether so oft mit neuen Mengen Wasser ausgekocht, bis sich dieses nur noch schwach färbt, mit verdünnter Salzsäure ausgelaugt, salzsäurefrei gewaschen, getrocknet, nochmals mit Aether ausgezogen und nun im Soxhlet'schen Extractionsapparat mit Chloroform behandelt. Aus der Chloroformlösung scheidet sich Bilirubin in Krusten ab, während ein ihm nahestehender, durch Alkohol fällbarer und, wie es scheint, stickstoffärmerer Farbstoff in Lösung bleibt. Zur Reinigung wird das Bilirubin noch ein zweites und drittes Mal derselben Behandlung mit Chloroform unterworfen, dann erschöpfend mit Alkohol extrahirt und zuletzt aus der Chloroformlösung durch Fällen mit Alkohol als amorphes Pulver erhalten oder aus kochendem Dimethylanilin umkrystallisirt. Da die Ausbeute an reiner Substanz nur einige Procente beträgt, so müssen grössere Mengen Gallensteine verarbeitet werden. Darstellung.

Um Bilirubin aus Flüssigkeiten, welche gleichzeitig Blutfarbstoff, Methämoglobin, Urobilin u. s. w. enthalten, zu isoliren, fällt man mit einer Isolirung aus Flüssigkeiten.

1) Ann. Chem. Pharm. **132**. 323. (1864.)
2) Sitzungsber. d. Wien. Akad. **57**. II. 95. (1868.)
Ann. Chem. Pharm. **175**. 76. (1875.)
3) Zeitschr. f. physiol. Chem. **26**. 314. (1899.)
Ber. d. d. chem. Ges. **35**. 1268. (1902.)

mässigen Quantität Kalkmilch unter gutem Umschütteln, leitet sofort, um die Zersetzung von Blutfarbstoff oder Methämoglobin zu beschränken, Kohlensäure ein und filtrirt. Den ausgewaschenen Niederschlag bringt man in Alkohol, fügt Chloroform und dann Essigsäure bis zur Uebersättigung des Kalks hinzu, filtrirt und scheidet das Chloroform durch Zufügen von Wasser ab. Die Chloroformlösung wird abgegossen, durch ein trocknes Filter filtrirt und verdunstet. Das zurückbleibende Bilirubin kann mit etwas Alkohol und Aether gewaschen werden. Quantitativ genau ist diese Bestimmung nicht, sie giebt meist viel zu niedrige Werthe, weil die Kalkfällung nicht vollkommen ist, auch bei der weiteren Behandlung etwas Bilirubin zersetzt wird. Die ganze Procedur muss so schnell wie möglich ausgeführt werden. Hämatin wird aus Flüssigkeiten durch den Kalk wie Bilirubin gefällt und gelangt mit letzterem in die Chloroformlösung. Hämatin findet sich aber im Organismus nicht, höchstens im Magen und Darmcanale.

Eigenschaften. Reines Bilirubin krystallisirt aus heissem Dimethylanilin beim Erkalten meist in breiten, an beiden Enden schief abgeschnittenen Säulen und auch in charakteristischen Keulenformen (Küster). Aus Chloroform scheidet es sich beim Verdunsten in rhombischen Tafeln und Prismen ab u. z. sind dieselben schöner ausgebildet, wenn die Lösung noch nicht ganz rein ist. Reines krystallisirtes Bilirubin hat eine schöne braunrothe Farbe, noch unreines, amorphes stellt ein orangefarbiges Pulver dar, dem Schwefelantimon in der Farbe ähnlich. Bilirubin ist völlig unlöslich in Wasser und Glycerin, sehr wenig löslich in Aether, Benzol, Schwefelkohlenstoff, Amylalkohol, etwas löslicher in Alkohol. In Chloroform löst es sich wie 1 : 600, in heissem reichlicher; in Dimethylanilin wie 1 : 100, in heissem sehr viel reichlicher. Alle Lösungen haben gelbe bis bräunlich-rothe Farbe. In einer 1,5 cm dicken Schicht ist noch bei 500,000 facher Verdünnung gelbliche Färbung zu erkennen. In alkalischen Flüssigkeiten löst es sich leicht auf und wird, soweit es nicht zersetzt ist, durch Salzsäure aus diesen Lösungen unverändert wieder abgeschieden. Da die Alkaliverbindungen in Chloroform unlöslich sind, kann man einer Chloroformlösung das Bilirubin durch verdünntes Alkali entziehen (Unterschied vom Luteïn). Aus einer conc. wässerigen Lösung wird Bilirubinnatrium durch conc. Natronlauge ausgefällt. Bilirubincalcium fällt auf Zusatz von Chlorcalcium zu einer ammoniakalischen Bilirubinlösung als rostfarbiger, flockiger Niederschlag aus, der über Schwefelsäure im Vacuum getrocknet metallisch glänzend dunkelgrün erscheint, zerrieben ein dunkelbraunes Pulver $(C_{16}H_{17}N_2O_3)_2Ca$ darstellt und in Wasser, Alkohol, Aether und Chloroform unlöslich ist. Auch durch Chlorbarium, Bleizucker, Bleiessig und Silbernitrat wird eine ammoniakalische Bilirubinlösung gefällt, die Silberverbindung bildet bräunlich-violette Flocken. Silberoxyd wird durch Bilirubin nicht reducirt, auch beim Kochen nicht. Acetophenonazobilirubin $C_{24}H_{25}N_4O_4$ krystallisirt in

mikroskopischen, prismenförmigen Nädelchen, die im auffallenden Licht fuchsinartig glänzen, im durchfallenden schwarz erscheinen (Pröscher[1]).

Zersetzungen. Wenn man Bilirubin in alkalischer Lösung auf flachen Tellern der Luft aussetzt, so wird die Lösung grün durch Bildung von Biliverdin. Vermischt man eine schwach alkalische oder neutrale Bilirubinlösung mit nicht zu verdünnter Salpetersäure, die etwas salpetrige Säure enthält (wie dies gewöhnlich der Fall ist), so geht die Farbe der Flüssigkeit zunächst in Grün, dann in Blau, Violett, Roth und endlich in Gelb über. Ueber hierbei auftretende Farbstoffe siehe § 263 am Ende. Das Endproduct der Einwirkung, besonders der rauchenden Salpetersäure, ist von Maly[2]) Choletelin genannt worden und enthält nach seinen Bestimmungen im Mittel C 55,5; H 5,5; N 9,1 pCt. Auf dieser Reaction beruhen die Gmelin'sche und Hammarsten'sche Probe. Bei der Oxydation mit Natriumbichromat in Eisessig entsteht Hämatinsäure (Küster). Durch Einwirkung von Natriumamalgam oder von Zinn und Salzsäure bildet sich nach Maly[3]) Hydrobilirubin $C_{32}H_{40}N_4O_7$ (§ 262).

Nachweis. Zum Nachweis des Bilirubins dienen folgende Reactionen:

1. Gmelin's Probe. Bringt man in ein Cylinderglas eine wässerige Bilirubin- (oder Biliverdin-) lösung und, am Besten mit einer Pipette, darunter eine Salpetersäure (spec. Gew. mindestens 1,4), die etwas salpetrige Säure enthält, mit der Vorsicht, dass die Flüssigkeiten sich nicht zu sehr an der Grenze mischen, so bildet sich eine Farbenskala in der Reihenfolge aus, dass unten zunächst an der Salpetersäure gelbrothe, darüber rothe, dann violette, darüber blaue und zu oberst grüne Färbung erkennbar wird. Die Reaction gelingt noch gut bei einer Verdünnung von 1 : 80000. Eiweiss stört diese Reaction nicht, mässiger Gehalt an Urobilin im Harne oder von Luteïn im Blutserum ebenfalls nicht erheblich, wohl aber die dunkele Färbung von Methämoglobin oder Hämatin.

2. Hammarsten's Probe[4]). Von einem Säuregemisch, welches aus 1 Th. 25 proc. Salpetersäure und 19 Th. 25 proc. Salzsäure besteht, durch Stehen gelblich geworden sein muss und sich mindestens 1 Jahr hält, mischt man vor jedesmaligem Gebrauch 1 Th. mit 4 Th. Alkohol. Setzt man zu einigen ccm dieser sauren, farblosen Flüssigkeit einige Tropfen Bilirubinlösung, so entsteht sofort eine dauerhafte, schön grüne Farbe. Durch Zusatz von mehr Säuregemenge zu dieser grünen Flüssigkeit kann man sehr leicht nacheinander und beliebig langsam sämmtliche Farben der Gmelin'schen Reaction erhalten.

Ueber den Nachweis von Gallenfarbstoffen im Harn siehe „Untersuchung des Harns".

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **29**. 411. (1900.)

2) Sitzungsber. d. Wien. Akad. **59**. II. 597. (1869.)

3) Ann. Chem. Pharm. **163**. 77. (1872.)

4) Maly's Jahresber. 1898. S. 310.

Vorkommen

261. **Biliverdin** $C_{16}H_{18}N_2O_4$. Das Biliverdin, dessen Formel von Maly[1]) festgestellt wurde, ist ein Oxydationsproduct des Bilirubins und findet sich neben diesem in der Galle vieler Thiere und reichlich in den Rändern der Placenta der Hündin; ferner im Darminhalt, im Erbrochenen und icterischen Harn.

Darstellung.

Zur Darstellung aus Bilirubin lässt man nach Staedeler eine alkalische Lösung in flachen Gefässen längere Zeit an der Luft stehen, fällt dann mit Salzsäure, wäscht den abfiltrirten Niederschlag mit Wasser, löst ihn in Alkohol und lässt das alkoholische Filtrat verdunsten. Küster erhielt indessen auf diesem Wege keinen einheitlichen Körper. Um es aus Hundeplacenta zu gewinnen, wäscht man diese zunächst mit Wasser gut aus, extrahirt dann mit einer Mischung von Chloroform und Alkohol, dampft das Filtrat ein, zieht den Rückstand mit kaltem Alkohol aus, filtrirt und verdunstet bei mässiger Wärme zur Trockne.

Eigenschaften.

Das Biliverdin ist ein amorpher, dunkelgrüner Körper. Beim Verdampfen einer Lösung in Eisessig erhält man unvollkommene, grün gefärbte, rhombische Plättchen mit abgestumpften Ecken. Es ist in Wasser, Aether und Chloroform unlöslich, in Alkohol leicht löslich. In selbst sehr verdünnten Alkalien löst es sich und wird durch Kalk-, Baryt- und Bleisalze, sowie durch Säuren wieder gefällt. Auch conc. Schwefelsäure löst es mit grüner Farbe, Zusatz von Wasser scheidet es unverändert ab.

Zersetzungen.

Durch Salpetersäure erfährt es die gleichen Veränderungen wie Bilirubin (Umwandlung der Farbe in Blau, Violett, Roth und Gelb), durch Oxydation mit Natriumbichromat in eisessigsaurer Lösung entsteht Hämatinsäure. Durch schweflige Säure wird eine alkalische Lösung von Biliverdin, besonders schnell beim Erwärmen, gelb gefärbt, und diese Lösung verhält sich gegen Salpetersäure der Bilirubinlösung sehr ähnlich. Durch Natriumamalgam oder Zinn und Salzsäure wird es ebenso wie Bilirubin in Hydrobilirubin verwandelt (Maly[2]).

Nachweis.

Zum Nachweis dienen die Gmelin'sche und die Hammarsten'sche Probe (§ 260). Vom Bilirubin unterscheidet es sich durch seine grüne Farbe, seine Löslichkeit in Alkohol und Unlöslichkeit in Chloroform.

Hydrobilirubin.

262. Hydrobilirubin $C_{32}H_{40}N_4O_7$, der von Maly (a. a. O.) durch Reductionsmittel aus Bilirubin und Biliverdin erhaltene Körper, ist ein rothbraunes Pulver, sehr wenig löslich in Wasser, leicht löslich in Alkohol, Chloroform und in Alkalien, durch Säuren wieder fällbar. Es stimmt auch in seinen spectroscopischen und Fluorescenzerscheinungen mit dem Urobilin (§ 265) überein und wurde von Maly für identisch mit Urobilin gehalten. Von andern wird die Identität geleugnet, so von Garrod u. Hopkins[3]), welche für das Urobilin einen sehr viel niedrigeren Stickstoffgehalt fanden.

263. Andere Gallenfarbstoffe. Es giebt unzweifelhaft noch manche andere Gallenfarbstoffe als die beschriebenen, aber sie sind ungenügend bekannt und vielleicht auch als bei der Darstellung entstandene Kunstproducte anzusehen. Von Scherer[4]) und

---

[1]) Ann. Chem. Pharm. **175**. 76. (1875.) [2]) Ebendas. **163**. 77. (1872.)
[3]) Journ. of Physiol. **22**. 451. (1898.) [4]) Ann. Chem. Pharm. **53**. 377. (1845.)

Staedeler (a. a. O.) wurden solche kurz beschrieben. Die von Staedeler Bilifuscin und Bilihumin genannten Farbstoffe sind nicht näher bekannt, Brücke's[1]) Bilifuscin ist verschieden von Staedeler's Bilifuscin, aber gleichfalls noch nicht zuverlässig rein gewonnen. Dasselbe muss von dem von v. Zumbusch[2]) beschriebenen Bilifuscin gesagt werden. Dieses giebt ebenso wie das Brücke'sche keine Gmelin'sche Reaction. Staedeler's Biliprasin ist identisch mit Biliverdin, siehe darüber auch die Arbeiten von Dastre und Floresco[3]).

Leider zeigen die beschriebenen Gallenfarbstoffe keine so charakteristischen Einwirkungen auf das Licht, dass die Spectraluntersuchung zu ihrer Unterscheidung wesentlich behülflich sein könnte; dagegen werden aus mehreren Gallenfarbstoffen sowohl durch Salpetersäure als auch durch Salzsäure Körper gebildet, welche sich bei der Spectraluntersuchung durch gut erkennbare Absorptionsstreifen unterscheiden lassen.

Spectrum der Ochsengalle.

Frische Ochsengalle hat eine grüne Farbe und zeigt im Spectrum bei ziemlich bedeutender Dicke der Flüssigkeit einen Absorptionsstreifen zwischen D und E näher an D. Ochsengalle oder der alkoholische Auszug ihres Verdampfungsrückstandes erscheinen nach einiger Zeit in dünnen Schichten bald grün, in dickeren roth und bei der Spectraluntersuchung bei genügender Verdünnung treten 4 Absorptionsstreifen auf, von denen der erste dicht vor C, der zweite nahe vor D, der dritte nahe hinter D, der vierte nahe vor E zu beobachten ist. Der zweite und besonders der dritte sind sehr dunkle, gut contourirte Streifen; im Uebrigen ist über diesen Farbstoff, der sich auch in der Schafgalle findet, zwar viel gearbeitet, aber wenig Bestimmtes ermittelt worden. Man erhält nämlich diesen Körper auch durch Einwirkung von Salpetersäure oder Bromwasser auf die Chloroformlösung von Bilirubin, Biliverdin oder Bilifuscin, auch durch Einwirkung von Jod auf alkalisch-wässerige Lösung der Gallenpigmente wird er gewonnen. Der Farbstoff erscheint grün in alkalischer, blau oder violett in saurer Lösung. Stokvis[4]) hat ihn Choleverdin später Cholecyanin, Heynsius und Campbell[5]) Bilicyanin genannt. Die Spectralerscheinungen wurden zuerst von Hoppe-Seyler in diesem Handbuch, dann auch von Jaffé[6]) und Bogomoloff[7]) beschrieben.

Harnfarbstoffe.

Vorkommen.

264. **Urochrom**, der Hauptfarbstoff des Harns, früher von Thudichum u. A. weniger rein erhalten, ist von Garrod[8]) genauer untersucht und in folgender Weise dargestellt worden:

Darstellung.

Der Harn (ca. 1 Liter) wird gelinde erwärmt, mit Ammonsulfat gesättigt, filtrirt und das Filtrat mit absol. Alkohol (auf 10 Vol. 2—3 Vol. absol. Alkohol) versetzt. Die sich abscheidende alkoholische Schicht, welche den Farbstoff enthält, wird in viel Wasser gegossen, durch Eintragen von Ammonsulfat bei gelinder Wärme wieder zur Abscheidung gebracht, durch Aufgiessen auf festes Ammonsulfat und schwaches Erwärmen entwässert und nun unter Erhaltung der alkalischen Reaction durch zeit-

---

1) Brücke, Allgem. Wien. Zeitung. 1859. S. 335.
Simony, Wien. Acad. Sitzungsber. **73.** III. 18. Mai 1876.

2) Zeitschr. f. physiol. Chem. **31.** 446. (1901.) 3) Arch. de physiol. **9.** (1897.)

4) Maandblad v. d. Genootsch. teer bevord van Nat. gen. etc. Amsterdam 1870. S. 10. Centralbl. f. d. med. Wiss. 1872. S. 785.

5) Arch. f. d. ges. Physiol. **4.** 497. (1871.)

6) Centralbl. f. d. med. Wiss. 1868. S. 241. 7) Ebendas. 1869. S. 529.

8) Proc. roy. Soc. **55.** 394. (1894.) u. Huppert, Analyse. 10. Aufl. S. 506.

weiligen Zusatz von Ammoniak auf dem Wasserbade eingedampft. Den braunen Rückstand wäscht man zur Entfernung von Indoxylschwefelsäure schnell mit Essigäther und lässt ihn dann einige Stunden unter absol. Alkohol stehen. Die erhaltene alkoholische Lösung wird bis zur starken Orangefärbung eingeengt, in mindestens das gleiche Vol. Aether eingegossen, der ausgeschiedene Farbstoff abfiltrirt, mit Aether gewaschen, nach dem Trocknen mit Chloroform und zuletzt mit absol. Alkohol gewaschen. Die Darstellung ist mit grossem Verlust verbunden.

Eigenschaften. Urochrom ist eine amorphe, braune Substanz, stickstoffhaltig, eisenfrei, leicht löslich in Weingeist und Wasser, weniger leicht in absol. Alkohol, Amylalkohol und Aceton, unlöslich in Aether und Chloroform. Die Lösungen werden gefällt durch Bleiacetat, Silbernitrat, Mercuriacetat, Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdaensäure. Sie zeigen keinen Absorptionsstreifen und keine Fluorescenz, auch nicht nach Zusatz von Chlorzink und Ammoniak. Durch Säuren wird es leicht zersetzt unter Bildung brauner und schwarzer Substanzen. Durch Einwirkung von Aldehyd entsteht ein dem Urobilin ähnlicher Farbstoff.

Vorkommen. 265. **Urobilin** wurde zuerst von Jaffé[1]) dargestellt und benannt, später besonders von Garrod und Hopkins[2]) untersucht. Es findet sich in jedem Harn (nach Saillet aus Urobilinogen durch Einwirkung des Sonnenlichtes entstehend), reichlicher im Harn von Fieberkranken, bei Lebercirrhose, anderen icterischen Krankheiten (seltener bei katarrhalischem Icterus), sowie anderen pathologischen Zuständen. Es kommt auch im unteren Dünndarm, Dickdarm und in den Fäces (von der Geburt an) vor; im Meconium fehlt es. Es entsteht jedenfalls aus Gallenfarbstoff. Die Identität mit Hydrobilirubin wird neuerdings bestritten (§ 262). Nach Garrod und Hopkins hat es die mittlere Zusammensetzung C 63,58; H 7,84; N 4,11 pCt.

Darstellung. Die Darstellung aus Harn geschieht unter Benutzung der zuerst von Méhu[3]) beobachteten Eigenschaft des Urobilins, durch Sättigung des Harns mit Ammonsulfat ausgefällt zu werden, sowie einiger von Fr. Müller und Huppert[4]) gemachter Vorschläge in folgender Weise: Der Harn wird mit alkalischer Chlorbariumlösung (auf 100 Th. Harn 30 Th. einer Mischung von 1 Vol. gesättigter Chlorbariumlösung und 2 Vol. gesättigtem Barytwasser) zur Entfernung von Harnsäure und Hämatoporphyrin versetzt, filtrirt, sodann wird aus dem Filtrat durch conc. Natriumsulfatlösung der überschüssige Baryt entfernt, die Flüssigkeit mit Schwefelsäure nahezu neutralisirt, filtrirt und mit Ammonsulfat gesättigt. Der Niederschlag wird auf dem Filter gesammelt, mit gesättigter Ammonsulfatlösung gewaschen und, nachdem

---

1) Arch. f. pathol. Anat. **47**. 405. (1869.)
2) Journ. of physiol. **20**. 112. (1896.) u. **22**. 451. (1898.)
3) Journ. de pharm. et de chim. [4.] **28**. 159. (1878.)
4) Huppert, Analyse des Harns. 10. Aufl. S. 527.

er lufttrocken geworden, nach Zusatz von verdünnter Schwefelsäure mit einer Mischung von 1 Th. Aether und 2 Th. Alkohol in der Wärme ausgezogen. Die abfiltrirte Lösung wird mit Chloroform gemischt, im Scheidetrichter mit ungefähr dem doppelten Volumen Wasser geschüttelt und zur Abscheidung der Chloroformlösung stehen gelassen. Man lässt jetzt die Chloroformlösung ab, wäscht sie mit dem doppelten Volumen Wasser und entzieht ihr das Urobilin durch Schütteln mit ammoniakalischem Wasser. Aus der ammoniakalischen Lösung vertreibt man das Ammoniak in der Wärme. Andere Methoden sind von Garrod und Hopkins angegeben. Ueber die Isolirung aus Fäces siehe „Untersuchung der Fäces“.

Das Urobilin zeigt im durchfallenden Lichte in dünnen Schichten rosenrothe, in dickeren bräunlich-purpurrothe Färbung, im auffallenden Lichte lebhaften gelb-grünen Metallglanz, ähnlich den Rosanilinsalzen, ist aber im durchfallenden Lichte bei Weitem nicht so schön gefärbt. Es ist bis jetzt nur amorph erhalten worden, löst sich wenig in Wasser oder Aether, leicht in Alkohol, Amylalkohol oder Chloroform, auch in wässerigen Alkalilösungen oder Ammoniak, aus denen es durch Säuren wieder gefällt wird. Es erscheint in seinen neutralen alkoholischen Lösungen je nach der Concentration braungelb, gelb oder rosa mit grüner Fluorescenz, in alkalischen Lösungen mehr gelb, in sauren alkoholischen rosen- bis bräunlichpurpurroth. Die Lösungen verändern an der Luft mehr und mehr ihre Färbung ins Bräunliche unter allmählich fortschreitender Zersetzung des Farbstoffs. Mit der Lösung des Farbstoffs getränkte Papierfilter oder Baumwolle und Wolle geben beim Waschen mit Wasser, Alkohol, Chloroform den Farbstoff nur unvollkommen wieder ab. Durch Sättigen seiner Lösungen mit Ammonsulfat (aber nicht mit Ammonchlorid) wird es abgeschieden, aus dem Harn auch durch Phosphorwolframsäure. Durch basisch essigsaures Blei wird der Farbstoff gefällt, theilweise durch Chlorzink oder Zinksulfat und Ammoniak. Die ammoniakalische Lösung zeigt auf Zusatz von etwas Zinksalz eine sehr kräftige, noch bei sehr starker Verdünnung erkennbare Fluorescenz, die alkalische auf Zusatz von etwas Kupfersulfat eine violette oder röthliche Färbung (Biuretreaction). Eigenschaften.

Im durchfallenden Lichte spectroskopisch untersucht zeigen sehr verdünnte saure Lösungen einen Absorptionsstreifen zwischen den Linien b und F, etwas näher an letzterer Linie und auch über sie hinausgehend (s. Spectraltafel). In alkalischen Lösungen ist der Streifen schwächer und mehr nach b gerückt u. z. in der ammoniakalischen noch schwächer als in der ätzalkalischen, sehr deutlich aber in der Ammoniak und Zink enthaltenden, stark fluorescirenden Lösung. Spectrum.

Zum Nachweis des Urobilins im Harn dient zunächst die spectroskopische Prüfung desselben nach Zusatz von einigen Tropfen Schwefelsäure, ferner die grüne Fluorescenz und spectroskopische Prüfung des nach Zusatz von Ammoniak filtrirten und mit Chlorzinklösung versetzten Harns. Nachweis.

Nencki und Rotschy[1]) empfehlen 10—20 ccm Harn mit einigen Tropfen Salzsäure anzusäuern und mit 5—10 ccm Amylalkohol gelinde durchzuschütteln. Die klar abgegossene amylalkoholische Lösung wird spectroskopisch untersucht; nach Zusatz einiger Tropfen einer Lösung, die 1 g Chlorzink in 100 ccm ammoniakalischem Alkohol enthält, entsteht grüne Fluorescenz. Gelingt der Nachweis in dieser Weise nicht, so ist das oben beschriebene Isolirungsverfahren an einer grösseren Harnmenge auszuführen.

Vorkommen. 266. **Uroerythrin.** Dieser von Prout als rosige Säure, von Golding Bird als Purpurin bezeichnete, von Heller untersuchte Farbstoff ist in neuerer Zeit von Zoja, Riva und besonders von Garrod[2]) genauer beschrieben worden. Er findet sich sehr häufig in normalem Harn, die rothe Farbe des sedim. later. bedingend, vermehrt nach Muskelanstrengungen und starkem Schwitzen, bei Digestionsstörungen, Herz- und Lungenaffectionen, besonders bei rheumatischen Krankheiten und solchen, die Circulationsstörungen in der Leber bewirken.

Darstellung. Zur Darstellung benutzt man das Uratsediment, welches sich beim Abkühlen des Harns bildet. Dasselbe wird abfiltrirt, in Wasser unter mässigem Erwärmen gelöst, die Lösung mit Ammonchlorid gesättigt, der Niederschlag (Urate und Uroerythrin) abfiltrirt und mit gesättigter Ammonchloridlösung gewaschen, bis alles Urobilin entfernt ist. Jetzt digerirt man den Niederschlag an einem dunklen Orte einige Stunden mit warmem Alkohol, filtrirt, versetzt das Filtrat mit mindestens 2 Th. Wasser und schüttelt mehrmals mit Chloroform (zur Entfernung von Hämatoporphyrin). Fügt man jetzt einige Tropfen Essigsäure hinzu und schüttelt abermals mit Chloroform, so nimmt dieses das Uroerythrin auf. Nach dem Waschen mit Wasser lässt man die Chloroformlösung im Dunkeln bei mässiger Temperatur verdunsten (Garrod).

Eigenschaften. Das Uroerythrin hat eine rosa Farbe, ist amorph und wird, besonders in seinen Lösungen, durch Licht leicht gebleicht (charakteristisches Verhalten). Das beste Lösungsmittel ist Amylalkohol, es folgen dann Essigäther, Alkohol, Chloroform, Wasser. Sehr verdünnte Lösungen sind rosa, concentrirte röthlich orange. Sie fluoresciren nicht, auch nicht nach Zusatz von Chlorzink und Ammoniak, zeigen aber eine starke Lichtabsorption, die Spectrum. in der Mitte zwischen D und E beginnt, bis F reicht und eigentlich aus zwei durch einen Schatten verbundenen Streifen besteht (siehe Spectraltafel). Durch conc. Schwefelsäure werden die Lösungen carminroth, durch Alkalien (ausser Ammoniak) durch Purpur und Blau hindurch schnell grün gefärbt.

Nachweis. Zum Nachweis schüttelt man den Harn vorsichtig mit Amylalkohol. Die Orangefarbe, das spectroskopische Verhalten und das Abblassen der Färbung bei der Belichtung lassen das Uroerythrin erkennen. Auch das Verhalten gegen Alkalien und conc. Schwefelsäure ist charakteristisch.

---

[1]) Monatsh. f. Chem. **10**. 568. (1889.) [2]) Journ. of. Physiol. **17**. 439. (1895.)

267. **Uroroseïn.** Dieser zuerst von Nencki und Sieber[1]) im Harn von Kranken beobachtete, dann auch von Rosin[2]) nachgewiesene Farbstoff kommt als Chromogen vor u. z. nach Rosin sehr häufig. Es entsteht aus dem Chromogen auf Zusatz von Mineralsäuren, bes. Salpetersäure oder Salzsäure und etwas Chlorwasser, ist in Aether, Chloroform unlöslich (Unterschied von Indirubin § 217), löslich in Wasser, Aethyl- und Amylalkohol mit schön rother Farbe. Dieselbe verschwindet auf Zusatz von Alkalien, um auf Zusatz von Mineralsäuren wiederzukehren. Die Lösungen zeigen einen scharfen Streifen zwischen D und E.

268. Urorubrohämatin $C_{68}H_{94}N_8Fe_2O_{26}$ und Urofuscohämatin $C_{68}H_{106}N_8O_{26}$ hat Baumstark[3]) zwei Farbstoffe genannt, die er bei einem Fall von Lepra aus dem Harne isolirte. Ersterer war in Wasser, Alkohol, Aether und Chloroform unlöslich, gab mit Alkalien eine schön braunrothe, nicht dichroïtische Flüssigkeit und zeigte in saurer Lösung einen Absorptionsstreifen vor der Linie D und einen zweiten hinter D. Der zweite löste sich in Alkalien mit brauner Farbe ohne Dichroïsmus und gab kein charakteristisches Spectrum. Beide Farbstoffe scheinen in naher Beziehung zum Hämatin zu stehen. Andere Harnfarbstoffe.

Dunkle, zu den Melaninen (§ 268) gehörige Farbstoffe oder Chromogene derselben, die beim Stehen des Harns an der Luft oder durch Oxydationsmittel (Eisenchlorid) in Melanin übergehen, sind im Harn von Kranken mit melanotischen Neubildungen beobachtet (K. A. H. Mörner[4]), v. Jaksch[5]).

Ueber Hämatoporphyrin und sein Vorkommen im Harn siehe § 256, über andere im Harn normaler und pathologischer Weise auftretende Farbstoffe und ihren Nachweis siehe „Untersuchung des Harns".

Braune und schwarze Pigmente, Melanine.

269. Mehr oder weniger dunkle, braune bis ganz schwarze Pigmente finden sich in der Chorioïdea und Retina des Auges, dem Rete Malpighii vieler Thiere und des Menschen, besonders bei Negern, in den Haaren und Federn, der Haut von Reptilien und Fischen, dem Horne, Fischbein, in den Pigmentzellen an serösen Häuten bei Fröschen, Schlangen u. s. w. Fast bei allen erwachsenen Menschen findet sich mehr oder weniger reichlich ein schwarzer Farbstoff in Lungen und Bronchialdrüsen, und meist zeigt er sich bei Sectionen in denjenigen Organen als schiefergraue Färbung, welche von diesen Organen Lymphe empfangen. In melanotischen Carcinomen und Sarkomen finden sich schwarze Pigmente oft in grossen Massen abgelagert. Auch im Harn von Kranken mit melanotischen Tumoren treten Vorkommen.

---

[1]) Journ. f. pract. Chem. [2.] **26.** 333. (1882.)
[2]) Deutsch. med. Wochenschr. 1893. S. 51.
[3]) Ber. d. d. chem. Ges. **7.** 1170. (1874.)
[4]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **11.** 66. (1887.) [5]) Ebendas. **13.** 385. (1889.)

solche Farbstoffe oder Chromogene derselben auf. Für manche dieser Körper erscheint eine Beziehung zum Blutfarbstoff ausgeschlossen und die Entstehung aus Eiweiss wahrscheinlich. Beim Kochen von Eiweiss mit Mineralsäuren treten den Melaninen ähnliche Stoffe, Melanoïdinsäuren[1]) auf.

Allgemeine Eigenschaften.

Diese sämmtlichen Pigmente sind amorph, bilden kleinere oder grössere Körnchen. In ihrer Zusammensetzung weichen sie sehr von einander ab, doch enthalten sie im Allgemeinen mehr Kohlenstoff und weniger Stickstoff und Wasserstoff als die Eiweissstoffe. Manche sind eisenhaltig, andere eisenfrei. Dasselbe gilt vom Schwefel. Der Schwefelgehalt ist bei einigen sehr hoch gefunden. Viele der analysirten Substanzen waren von zweifelhafter Reinheit. Sie sind unlöslich in Wasser, Alkohol, Aether, ebenso in Säuren. In Alkalien sind sie zum Theil schwerlöslich oder unlöslich, zum Theil leicht löslich. Viele geben beim Erhitzen Pyrrol.

Die dunklen Pigmente der Retina und Chorioïdea, der Haut, der melanotischen Carcinome, der Haare und Federn, des Fischbeins u. s. w. werden schnell zerstört, wenn sie in Alkalilauge gelöst oder suspendirt mit Chlor behandelt werden; in den Lungen und Bronchialdrüsen von Menschen findet sich dagegen zuweilen ein Körper, der bei völlig schwarzer Farbe und Unlöslichkeit in Kalilauge von Chlor nicht angegriffen wird, also wohl Kohle ist, da man diese Eigenschaft fast an keinem anderen organischen Körper kennt. Dieser Stoff ist in sehr feinen Körnchen in diesen Geweben eingelagert, doch finden sich zuweilen in den Lungen Splitter von Holzkohle, welche durch die Respiration dahin gelangt sind und welche durch das Mikroskop gut unterschieden werden können. Concentrirte Salpetersäure greift die schwarzen Pigmente meist sehr langsam an.

Isolirte Melanine.

Melanine sind isolirt aus Chorioïdea[2]), aus melanotischen Geschwülsten von Menschen[3]) (Phymatorhusin), aus melanotischen Geschwülsten von Pferden[4]) (Hippomelanin), aus menschlichen und thierischen Haaren[5]), aus

---

1) Mulder, Journ. f. pract. Chem. **21**. 343. (1840.)
Schmiedeberg, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **39**. 65. (1897.)
Chittenden u. Albro, Americ. Journ. of Phys. **2**. 291. (1899.)

2) Rosow, Arch. f. Ophthalm. **9**. III. 63. (1863.)
Sieber, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **20**. 362. (1886.)
Hirschfeld, Zeitschr. f. physiol. Chem. **13**. 407. (1889.)
Landolt, Ebendas. **28**. 192. (1899.)

3) Berdez u. Nencki, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **20**. 346. (1886.)
Nencki u. Sieber, Ebendas. **24**. 17. (1888.)
Mörner, Zeitschr. f. physiol. Chem. **11**. 66. (1887.)
Miura, Arch. f. pathol. Anat. **107**. 250. (1887.)
Brandl u. Pfeiffer, Zeitschr. f. Biolog. **26**. 348. (1890.)
Schmiedeberg, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **39**. 70. (1897.)

4) Berdez u. Nencki, a. a. O. Nencki u. Sieber, a. a. O.

5) Sieber, a. a. O. Nencki u. Sieber, a. a. O.
Jones, Americ. Journ. of Physiol. **2**. 380. (1899.)

Negerhaut und Negerhaaren[1]). Ueber die Zusammensetzung einiger dieser Melanine siehe die Zusammenstellung bei Mörner und bei Chittenden und Albro. Ueber den schwarzen Farbstoff der Tintenfische (Sepiamelanin) siehe bei Nencki und Sieber. Hinsichtlich der schwarzen Farbstoffe, die aus dem Harn gewonnen sind, vergl. § 267.

Die Unterscheidung der genannten Farbstoffe von den Blut- und Gallenfarbstoffen macht keine Schwierigkeiten; ihre Unterscheidung von Holzkohlen-, Steinkohlen-, Braunkohlenstaub wird zum Theil nur mikroskopisch möglich sein.

Ablagerungen von gelbbrauner Farbe bestehend aus Ferrihydrat mit Calciumphosphat und Carbonat kommen pathologisch sehr reichlich in der Leber und in den Mesenteriallymphdrüsen vor und bleiben zurück, wenn die zerkleinerte Drüsenmasse zunächst mit viel Wasser kalt extrahirt, dann mit verdünnter Natronlösung erwärmt, abfiltrirt und sorgfältig mit Wasser ausgewaschen wird. Diese Massen lieferten in einem Falle lufttrocken gewogen 69 pCt. Fe_2O_3 neben 11 bis 12 pCt. $Ca_3(PO_4)_2$ und über 5 pCt. $CaCO_3$. Solche Eisenablagerungen können nicht wohl aus zersetztem Blutfarbstoff herrühren; sie können in einem Menschen mehr Eisen enthalten als das gesammte Blut desselben. Eisenablagerungen.

Lipochrome.

270. Unter diesem Sammelnamen hat man eine nicht geringe Zahl unvollkommen bekannter und nicht rein dargestellter Farbstoffe zusammengefasst, die darin übereinstimmen, dass sie in Fetten, Aether, Alkohol, Benzol, Chloroform, auch in wässrigen Seifenlösungen löslich sind, aber auf keine Weise frei von Fetten oder Seifen erhalten werden konnten.

271. **Luteïne.** Zu ihnen gehören die Farbstoffe, welche die gelbe Farbe des Eigelbs, der Corp. lutea, des Blutserums (Thudichum[2]), Krukenberg), des Fettgewebes, mancher Pflanzentheile z. B. der Maiskörner, vieler Staubfäden und Blüthen (Thudichum) bewirken. Ein krystallisirtes Luteïn erhält man nach Staedeler und Holm[3]) aus den Corp. lutea der Kühe. Aus Eidotter, Blutserum u. s. w. hat Luteïn bisher nicht rein dargestellt werden können, da keine Methode, es von den Fetten zu trennen, bekannt ist. Im Eidotter ist wahrscheinlich neben dem gelben noch ein rother Farbstoff vorhanden, deren Trennung und Isolirung aber bisher nicht gelungen ist. Die von Maly[4]) aus den Eiern von Maja squinado (Seespinne) dargestellten Luteïne, Vitelloluteïn und Vitellorubin, können auch nicht als reine Stoffe angesehen werden. Vorkommen der Luteïne im Allgemeinen.

Krystallisirtes Luteïn aus den Corp. lutea der Kühe erhält man, indem man die fein zerkleinerten, gelben Massen mit Chloroform extrahirt und die orangefarbene Lösung bei gewöhnlicher Temperatur verdunsten lässt. In dem zurückbleibenden Fett scheiden sich Krystalle ab, welche mit verdünntem Alkohol und wenig Aether gewaschen werden. Darstellung des krystallisirten Luteïns.

Die Krystalle sind mikroskopische, spitze Rhomboëder, meist dünne rhombische Plättchen, schwach pleochromatisch, im gereinigten Zustande in der Färbung der Chromsäure ähnlich. Sie sind in Wasser unlöslich, leicht löslich in Alkohol, Aether, Chloroform, Benzol und fetten Oelen, wenig löslich in Eiweisslösungen. In wässrigen Seifenlösungen löst sich das Luteïn leicht und fällt beim Zusatz einer Säure vollständig, beim Zusatz von Chlorcalciumlösung grösstentheils mit den fetten Säuren zusammen nieder. Durch Eigenschaften.

---

[1]) Abel u. Davis, Journ. exp. Med. 1. 361; citirt nach Maly's Jahresber. 1896. 529.

[2]) Centralbl. f. d. med. Wiss. 1869. S. 1.

[3]) Journ. f. pract. Chem. **100**. 142. (1867.)

[4]) Monatsh. f. Chem. **2**. 18. (1881.)

Mercuriacetat wird es vollständig gefällt. Durch Sonnenlicht wird es schnell unter Entfärbung zersetzt. Mit Salpetersäure übergossen wird es zuerst grün, dann blau, zuletzt gelb oder farblos. Durch dieses Verhalten lässt es sich gut von den Gallenfarbstoffen und andern gelben oder orangefarbigen Pigmenten unterscheiden, vom Bilirubin auch dadurch, dass es seiner Chloroformlösung durch verdünnte Alkalilösung nicht entzogen wird. Stärkere Säuren, selbst Essigsäure färben es grün oder blau. Kochen mit mässig verdünnten Alkalien scheint es nicht zu verändern.

Spectrum. Die Lösungen des Luteïns absorbiren sehr kräftig blaues und violettes Licht; verdünnt man eine Luteïnlösung mit Alkohol oder Aether mehr und mehr, während man sie mit dem Spectroskope untersucht, so zeigen sich bald zwei deutliche Absorptionsstreifen, von denen der eine die Linie F in sich fasst, aber weiter nach G als nach b hinreicht, der zweite ungefähr die Mitte zwischen F und G einnimmt. Wie Thudichum fand, variiren die Absorptionsstreifen hinsichtlich ihrer Lage im Spectrum etwas je nach dem Lösungsmittel.

272. **Tetronerythrin.** Auerhähne, Hasel- und Birkhähne sind durch eine eigenthümliche, stark roth gefärbte, runzlige Partie in der Umgebung ihrer Augen, „die Rosen" ausgezeichnet, in denen ein orangerother, leicht veränderlicher Farbstoff enthalten ist, der durch Alkohol, Aether, Chloroform, Schwefelkohlenstoff u. s. w. extrahirt werden kann. Weder Wurm[1]), der die Untersuchung zuerst vorgenommen, noch Hoppe-Seyler gelang es, den Farbstoff von Fetten, Cholesterin und Lecithin zu trennen und krystallisirt zu erhalten. Er ist frei von Eisen und Kupfer. Bei der Verseifung durch Kochen mit Barytwasser wird er nicht zerstört, doch lässt er sich der Seifenlösung durch Aether nicht entziehen. Säuren verändern ihn nicht. Salze der Schwermetalle rufen keine gefärbten Niederschläge hervor, wenn nicht der Farbstoff durch Fette u. s. w. niedergerissen wird. Die Farbstofflösungen verblassen im Licht sehr schnell und sind äusserst empfindlich gegen Ozon, so dass ozonhaltiger Aether oder Alkohol den Farbstoff bald entfärben. Bei der Spectraluntersuchung zeigen die Lösungen starke Absorption von violettem und blauem Licht, auch die Gegend des Blaugrün wird stark absorbirt. Ein characteristisches Spectrum wurde nicht beobachtet.

Einen mit dem Tetronerythrin identischen oder ihm sehr ähnlichen Farbstoff fand Krukenberg[2]) in mehreren Arten von Schwämmen.

Andere Farbstoffe.

273. **Sehpurpur**[3]). Um eine blutfarbstofffreie Sehpurpurlösung zu erhalten, extrahirt man die Netzhäute mit einer völlig alkoholfreien, wässrigen, sehr schwach alkalisch reagirenden Lösung von gallensaurem Natron, sättigt die Lösung mit krystallisirtem Magnesiumsulfat, wäscht den harzigen Niederschlag, welcher das Cholat und den Farbstoff enthält, aber frei von Blutfarbstoff ist, mit gesättigter Magnesiumsulfatlösung aus und löst ihn in Wasser. Statt dessen kann man auch die mit Alaun gehärteten Netzhäute zunächst mit Wasser, dann mit 10 proc. Kochsalzlösung behandeln und nun mit einer Lösung von gallensaurem Salz extrahiren. Zur Conservirung der Sehpurpurlösungen empfiehlt sich Sättigung mit Kochsalz. Die Lösung ist purpurroth. Entfernt man das Cholat durch Dialyse, so scheidet sich der Sehpurpur ab. Im Sonnenlicht geht die Farbe in Roth, Orange und Gelb über. Beim Erwärmen auf etwas über 50° wird der Farbstoff

---

1) Zeitschr. f. wiss. Zoolog. 1871. S. 535.

2) Centralbl. f. d. med. Wiss. 1879. 705.

3) W. Kühne, Unters. a. d. physiol. Institut d. Univ. Heidelberg. Bd. 1—4.
L. Hermann, Handb. d. Physiol. **3**. 235.
Kühne, Zeitschr. f. Biolog. **32**. 21. (1895.)
Koettgen u. Abelsdorf, Sitzber. d. preuss. Akad. d. Wiss. 1895. S. 621.

allmählich zerstört, ebenso zerstören ihn Alkalien, Säuren, Alkohol und Aether. Im Spectrum ruft er keine bestimmten Absorptionsstreifen hervor, sondern nur eine diffuse Absorption, besonders bei E.

274. **Turacin** wurde ein rothvioletter Farbstoff von Church[1]) genannt, den er aus den Flügelfedern von einigen Species der Musophagiden mit verdünnten Alkalien extrahirt und mit Säuren aus dieser Lösung gefällt hat. C 53,69; H 4,60; Cu 7,01; N 6,96 pCt. Seine alkalischen Lösungen zeigen zwei deutliche Absorptionsstreifen in Grün und Gelb und einen auf der Grenze von Grün und Blau. Dieser Farbstoff scheint dem Blutfarbstoff nahe zu stehen, siehe darüber auch Gamgee[2]).

Zahlreiche andere Farbstoffe sind aus Vogelfedern und aus Avertebraten in mehr oder weniger reinem Zustande dargestellt worden. Ihre Besprechung würde zu weit führen.

275. **Pyocyanin** $C_{14}H_{14}N_2O$ ist von Fordos[3]) der vom Bac. pyocyaneus gebildete Farbstoff genannt worden. In der voraseptischen Zeit wurde häufig eine Blaufärbung des Eiters beobachtet. Lücke[4]), welcher zuerst diese Erscheinung auf die Gegenwart dieser Mikroorganismen zurückführte, isolirte den Farbstoff aus den mit dem blauen Eiter getränkten Compressen. Ledderhose[5]) gewann ihn in grösseren Mengen durch Ausschütteln der Reinculturen des Bac. pyocyaneus mit Chloroform und untersuchte ihn genauer. Vorkommen.

Pyocyanin krystallisirt in mikroskopischen Nadeln oder durch rechtwinklige Kanten begrenzten Blättchen. Die Krystalle sind luftbeständig, schmelzen beim Erhitzen und zersetzen sich. Sie lösen sich leicht in Wasser, Alkohol und Chloroform, schwerer in Aether. Durch Säuren färbt sich eine Pyocyaninlösung roth und durch Alkalien wieder blau. Schüttelt man die Chloroformlösung mit wässriger Alkalilösung, so geht der Farbstoff in diese unter Violettfärbung über. Mit Pikrinsäure und Platinchlorid bildet es krystallisirende Verbindungen. Aus der alkoholischen oder wässrigen Lösung wird es durch Alaun oder Bleiacetat nicht gefällt. Es zeigt keine deutlichen Absorptionsstreifen, aber schwefelsaures Pyocyanin absorbirt sehr stark das Licht von D bis F. Eigenschaften.

In verdünnten Säuren gelöst ist es ziemlich beständig, während es besonders in unreiner wässeriger oder alkoholischer Lösung, auch unreinem Chloroform, sich bald zerlegt. Starke Säuren verändern es beim Erwärmen. Durch Chlor, rauchende Salpetersäure und Terpentinöl wird es zerstört. Es geht leicht über in einen von Fordos Pyoxanthose genannten gelben Farbstoff, der in Wasser wenig, in Aether, Chloroform, Alkohol leicht löslich ist und in mikroskopischen Nadeln krystallisirt. Zersetzungen.

---

276. Die **Proteïnkörper** finden sich bei Menschen und Thieren in allen Geweben und Flüssigkeiten und bilden in den meisten die Hauptmasse der festen Stoffe. Sehr arm an ihnen sind im normalen Zustande Thränen, Schweiss und Harn. Es sind hochmolekulare Verbindungen, welche alle Kohlenstoff, Sauerstoff, Stickstoff und Wasserstoff, zumeist auch Schwefel enthalten. In vielen findet sich auch Phosphor, in manchen Eisen, in einzelnen auch Kupfer und Jod. Sie stimmen darin überein, dass sie die Biuretreaction (§ 280,8) geben, beim Erhitzen den Geruch nach verbranntem Allgemeines über d. Proteïnkörper.

---

1) Chem. News. **19.** 265. (1869), **65.** 218. (1892.)
2) Proc. roy. soc. **59.** 339. (1896.) 3) Compt. rend. **56.** 1128. (1862.)
4) Langenbeck's Arch. f. Chirurg. **3.** 135. (1862.)
5) Deutsche Zeitschr. f. Chirurg. **28.** 201. (1888.)

Horn entwickeln und bei der hydrolytischen Spaltung Mono- und Diaminosäuren liefern. Eine rationelle, auf chemischer Basis beruhende Eintheilung dieser grossen Körperklasse ist bei der ungenügenden Kenntniss des chemischen Aufbaues zur Zeit noch nicht möglich. Es erscheint zweckmässig, folgende Gruppen zu unterscheiden:

Eintheilung der Proteinkörper.

1. Eiweissstoffe (Albuminstoffe).
2. Histone. 3. Protamine.
4. Albuminoïde. 5. Proteïde.

Diese Eintheilung, welche nur zum Theil auf chemischen Principien, hauptsächlich auf rein äusseren Merkmalen und reactionellen Unterschieden beruht, ist nur eine vorläufige und keine scharfe. Manche Proteïnkörper können mit demselben Recht mehreren Gruppen zugetheilt werden.

Eiweissstoffe (Albuminstoffe.)

Kurze Uebersicht.

A. Native Eiweissstoffe*).

277. I. Albumine, löslich in Wasser in allen Verhältnissen. Die wässrigen Lösungen werden nicht gefällt durch sehr verdünnte Säuren oder verdünnte Alkalicarbonatlösungen, auch nicht durch Sättigung mit Kochsalz oder Magnesiumsulfat oder durch Halbsättigung mit Ammonsulfat, wohl aber durch Sättigung mit diesem Salze. Durch Erhitzen der wässrigen Lösung bei Gegenwart von neutralen Alkalisalzen oder Salzen der alkalischen Erden werden sie gefällt und zugleich in coagulirte Eiweissstoffe übergeführt. Durch Säuren werden sie in Acidalbumine, durch Alkalien in Albuminate umgewandelt. Sie sind in Krystallen erhalten worden und zwar sind die Krystalle der verschiedenen Albumine, wenn nicht identisch, so doch isomorph (Wichmann[1]).

1. Serumalbumin. Eine möglichst salzfreie, neutrale Lösung gerinnt bei etwa 50°, eine etwas Salz enthaltende trübt sich erst über 60° und scheidet bei 72—75° Flocken aus. $[\alpha]_D = -61$ bis 61,2°.

2. Ovalbumin. Eine salzfreie Lösung trübt sich bei 60° und wird bei 64° flockig gefällt. Anwesenheit von Salz erhöht den Coagulationspunkt. $[\alpha]_D = -30{,}70°$.

3. Lactalbumin zeigt dieselbe Gerinnungstemperatur in neutraler Lösung bei geringem Salzgehalt wie Serumalbumin. $[\alpha]_D = -36{,}4$ bis 37,0°.

Myogen weicht in manchen Punkten von den Albuminen ab. Es ist in Wasser löslich, durch Sättigung mit Magnesiumsulfat oder Chlornatrium nur sehr unvollkommen fällbar, durch Sättigung mit Ammoniumsulfat fällbar, nicht durch Halbsättigung mit diesem Salze. Seine wässrigen Lösungen scheiden beim Stehen allmählich unlösliches Myogenfibrin ab und coaguliren bei schnellem Erhitzen zwischen 55 und 65°.

---

*) Da die Characterisirung der Albumine und Globuline mit wenigen Worten nicht gut zu geben ist, sind die Unterschiede dieser Körperklassen schon hier ausführlicher beschrieben worden.

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **27**. 575. (1899.)

II. Globuline, löslich in verdünnter Lösung neutraler Salze, wie Chlornatrium, Chlorammonium, Magnesiumsulfat. Diese Lösungen werden beim Erhitzen coagulirt. In Wasser sind sie unlöslich oder sehwer löslieh und werden deshalb bei gewöhnlieher Temperatur dureh Zusatz von viel Wasser oder durch Dialyse aus ihren salzhaltigen Lösungen abgeschieden*). Der Niedersehlag maneher Globuline wird beim längeren Stehen unter Wasser in neutraler Salzlösung unlöslich. Alle Globuline werden durch Sättigung der neutralen Lösung mit Magnesiumsulfat bei 30^0 ohne Aenderung ihrer Eigensehaften ausgefällt, ebenso dureh Sättigung mit Ammoniumsulfat vollständig oder fast vollständig aueh schon dureh Halbsättigung mit letzterem Salz. Dureh verdünnte Säuren werden sie in Acidalbumine, dureh Alkali in Albuminate umgewandelt.

a) Fällbar durch Sättigung der neutralen Salzlösung mit Chlornatrium.

1. Myosin. Eine Lösung von Myosin aus Muskelplasma trübt sich beim schnellen Erhitzen auf $44-47^0$, giebt einen Niederschlag bei $47-50^0$, eine vollständige Abscheidung bei $50-53^0$. Bei längerm Stehen trübt sie sich unter Abscheidung von Myosinfibrin. Eine Lösung von Myosin aus todten Muskeln trübt sich bei 42^0 und wird bei 55^0 flockig gefällt.

2. Fibrinogen. Seine Lösungen coaguliren bei $52-55^0$, gerinnen auf Zusatz von Fibrinferment (etwas Blutserum) unter Fibrinabscheidung.

3. Fibringlobulin. Seine Lösungen coaguliren bei etwa 64^0.

4. Serumglobulin. Seine Lösungen coaguliren bei $69-76^0$. $[\alpha]_D = -47{,}8^0$.

5. Krystallisirt. Globulin aus Harn. Seine Lösungen coaguliren bei $56-59^0$.

b) Nicht fällbar durch Sättigung der neutralen Lösungen mit Chlornatrium.

1. α-Krystallin. Seine Lösungen coaguliren bei etwa 72^0. $[\alpha]_D = -46{,}9^0$.
2. β-Krystallin. Seine Lösungen coaguliren bei 63^0. $[\alpha]_D = -43{,}2^0$.
3. Thyreoglobulin. Seine Lösungen coaguliren bei $65-67^0$.

B. Umwandlungsproduete der nativen Eiweissstoffe.

III. Fibrin, elastiseh faserig, unlöslieh in Wasser, nur sehr langsam löslieh, aber quellend in Koehsalz- oder anderen neutralen Salzlösungen, stark quellend in sehr verdünnter Salzsäure, ebenso in verdünnter Sodalösung. Durch peptisehe und tryptisehe Verdauungsflüssigkeit leieht gelöst. Beim Erhitzen über 75^0 zäh und brüehig werdend.

IV. Coagulirte Albuminstoffe, unlöslieh in Wasser, Salzlösungen, auch nur wenig in ihnen quellend, dureh Sodalösung oder verdünnte Säure kaum gelöst, dureh peptische und tryptisehe Verdauungsflüssigkeit gelöst, aber viel langsamer als Fibrin.

V. Aeidalbumine, unlöslich in Wasser, sowie in neutralen Salzlösungen; friseh gefällt leieht löslieh in sehr verdünnter Salzsäure oder Sodalösung, bei der Neutralisation sieh unverändert wieder ausseheidend; unlöslieh in kaltem oder heissem Alkohol; aus der Lösung in verdünnten

*) Eine Ausnahme machen die Krystalline (§ 294), welche ihrer sonstigen Eigenschaften wegen den Globulinen zugerechnet werden müssen, aber in Wasser löslich sind.

Säuren durch Sättigung mit neutralen Salzen fällbar; durch Alkali sich schnell in Albuminat umwandelnd.

VI. Albuminate oder Albuminsäuren, wenig löslich in Wasser, auch wenig löslich in Alkohol. Die wässerigen Lösungen reagiren sauer; leicht löslich in Sodalösung, auch leicht löslich in verdünnten Lösungen von Mineralsäuren, aus diesen letzteren Lösungen durch reichlich zugesetzte neutrale Salze fällbar ohne Aenderung ihrer Eigenschaften.

C. Nächste Spaltungsproducte der nativen Eiweissstoffe und ihrer Umwandlungsproducte (III—VI).

VII. Propeptone oder Albumosen, in Wasser löslich; weder durch Erhitzen noch durch Alkohol coagulirbar; aus ihren neutralen Lösungen durch Sättigung mit Kochsalz zum Theil, durch Sättigung mit Ammonsulfat zum grössten Theil fällbar. Man unterscheidet primäre Albumosen (Prot- und Heteroalbumose) und Deuteroalbumosen.

VIII. Peptone, in Wasser löslich; weder durch Erhitzen noch durch Alkohol coagulirbar; aus ihren Lösungen weder durch Sättigung mit Kochsalz noch mit Ammonsulfat fällbar.

D. Oxydirte, nitro- und halogensubstituirte Eiweissstoffe.

Native Eiweissstoffe.

Zusammensetzung u. allgemeine Eigenschaften.

278. Die nativen Eiweissstoffe enthalten alle Kohlenstoff, Sauerstoff, Stickstoff, Wasserstoff und Schwefel, aber in wechselnden Mengen, doch liegen die gefundenen Werthe innerhalb folgender Grenzen:

C 51,5—53,5 pCt. O 21,5—24,0 pCt. N 15,0—16,7 pCt.,
H 6,5—7,3 pCt. S 0,5—2,3 pCt.

Die Molekulargewichte haben noch nicht mit Sicherheit festgestellt werden können. Bei der gewöhnlichen Darstellungsweise werden sie amorph erhalten, unter bestimmten Bedingungen ist es gelungen, manche krystallinisch zu gewinnen. Sie sind zum Theil in Wasser, zum Theil nur in salzhaltigem Wasser löslich, in Aether, Schwefelkohlenstoff, Chloroform und derartigen Lösungsmitteln unlöslich; in Alkohol lösen sich manche in geringem Grade. Sie diffundiren nicht, ihre Lösungen zeigen alle Linksdrehung. Sie verhalten sich wie Basen und wie Säuren, indem sie sowohl mit Säuren, wie mit Basen Salze bilden. Die Verbindungen mit Säuren sind leicht dissociirbar. Sie lösen sich in Wasser, ebenso die Verbindungen mit Alkalien, während diejenigen mit Schwermetallen unlöslich sind. Die Eiweissstoffe werden aus ihren wässrigen Lösungen durch Eintragen von Ammon- oder Zinksulfat ausgefällt („ausgesalzen"), manche auch durch Magnesiumsulfat oder Natriumchlorid. Ebenso werden sie durch Alkohol abgeschieden. In beiden Fällen erfolgt die Abscheidung ohne Aenderung der Eigenschaften.

Durch längere Alkoholeinwirkung erleiden die nativen Eiweissstoffe eine Aenderung: sie gehen in den coagulirten Zustand über und werden in den gewöhnlichen Lösungsmitteln unlöslich. Die gleiche Umwandlung tritt beim Erhitzen einer Eiweisslösung bei Gegenwart von Salz und bei schwach saurer Reaction ein. Das Eiweiss scheidet sich als coagulirtes Eiweiss (§ 297) ab. Durch Säuren und Alkalien werden die nativen Eiweissstoffe ebenfalls umgewandelt (denaturirt) und in Acidalbumine (§ 298) und Alkalialbuminate (§ 300) übergeführt. Durch eine Reihe spaltender Agentien entstehen aus ihnen Propeptone oder Albumosen und Peptone (§ 301). Sie bilden Oxydations -und Substitutionsproducte (§ 316 bis § 320). Umwandlungs- und nächste Spaltungsproducte.

Die nativen Eiweissstoffe werden eingetheilt in Albumine und Globuline. Die Unterschiede dieser beiden Körperklassen sind bereits § 277 besprochen worden. Albumine u. Globuline.

279. **Zersetzungen der Eiweissstoffe.** Von den Producten, welche beim Kochen von Eiweissstoffen mit Säuren z. B. mit conc. Salzsäure entstehen, sind bis jetzt isolirt: Ammoniak, Kohlensäure, Schwefelwasserstoff, Aethylsulfid (?), Monaminosäuren (Glykocoll in sehr kleiner Menge, Leucin, Leucinimid, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Cystin, Phenylalanin, Tyrosin), Säure $C_{11}H_{12}N_2O_2$ (§ 215), α-Pyrrolidincarbonsäure, basische Stoffe (Lysin, Histidin, Arginin), Furfurol, Huminsubstanzen. Einige weitere Substanzen: Alanin, Aminovaleriansäure, Serin, Diaminoessigsäure sind bisher nur als Spaltungsproducte anderer Proteïnkörper nachgewiesen, werden aber jedenfalls auch aus den Eiweissstoffen entstehen. Auf den verschiedenen relativen Mengen, in denen diese Elementargruppen an dem Aufbau der einzelnen Eiweissstoffe betheiligt sind, beruht jedenfalls zum Theil wenigstens ihre Verschiedenheit. Zersetzungen: durch Säuren.

Zur quantitativen Bestimmung von Ammoniak, Lysin, Arginin und Histidin dient das Verfahren von Kossel und Kutscher[1]). Die Menge des Tyrosins lässt sich annähernd nach § 205 ermitteln. Für die Bestimmung des Cystins hat K. A. H. Mörner[2]) ein Verfahren angegeben, welches wenigstens zuverlässige Minimalwerthe giebt.

Beim Kochen mit Alkalien oder Erhitzen mit gesättigtem Barytwasser auf 150° und höher bilden sich, soweit die Untersuchungen bis jetzt reichen, Ammoniak, Kohlensäure, Schwefelwasserstoff, Essigsäure, Aminovaleriansäure, Leucin, Glutaminsäure, Tyrosin, Lysin. durch Alkalien.

Unter den Producten der bacteriellen Zersetzung sind nachgewiesen: Ammoniak, Kohlensäure, Schwefelwasserstoff, Methylmercaptan, Essigsäure, Buttersäure, Isobuttersäure, Isovaleriansäure, Bernsteinsäure, Aminovaleriansäure, Leucin, Tyrosin, Hydro-p-cumarsäure, p-Oxyphenylessigsäure, Kresol, Phenol, Phenylpropionsäure, Phenylessigsäure, Skatolessigsäure, Skatolcarbonsäure, Skatol, Indol, Tryptophan, Ptomaïne. durch Mikroorganismen.

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **31**. 165. (1901), Hart, Ebendas. **33**. 347. (1901.)
2) Ebendas. **34**. 207. (1901—1902.)

durch tryptische Verdauung.

Unter den bei der tryptischen Verdauung entstehenden Zersetzungsproducten sind aufgefunden: Ammoniak, Kohlensäure, Leucin, Leucinimid Asparaginsäure, Glutaminsäure, Cystin (?), Tyrosin, Oxyphenylaethylamin, Säure $C_{11}H_{12}N_2O_2$ (§ 215), Tryptophan, Lysin, Histidin, Arginin.

durch peptische Verdauung.

Unter den Producten lange fortgesetzter peptischer Verdauung sind nachgewiesen: Leucin, Leucinimid, Glutaminsäure, Tyrosin, Oxyphenylaethylamin, Tryptophan.

durch Schmelzen mit Alkalien.

Beim Schmelzen mit Aetzkali hat man Ammoniak, Kohlensäure, Wasserstoff, Schwefelwasserstoff, Methylmercaptan, Leucin, Tyrosin, Skatol, Indol, Phenol, flüchtige fette Säuren, Oxalsäure erhalten. Beim Erhitzen mit Natronkalk destilliren Ammoniak, Pyrrol und ähnliche Stoffe über.

durch Oxydationen.

Bei der Oxydation mit Kaliumpermanganat entsteht etwas Guanidin, bei der Oxydation mit Wasserstoffhyperoxyd und Eisensalz entsteht Aceton. Destillation mit Kaliumchromat oder Braunstein und Schwefelsäure bildet aus den Eiweissstoffen verschiedene fette flüchtige Säuren, Aldehyde, Nitrile, Bittermandelöl, Kohlensäure. Unterchlorigsaures Salz zersetzt unter Entwicklung von Stickstoff, Kohlensäure und reichlicher Oxalsäurebildung. Königswasser bildet Oxalsäure, Fumarsäure, Chlorazol.

Nachweis.

280. **Reactionen der Eiweissstoffe.** Man theilt sie ein in Fällungs- und Farbenreactionen. Da keine einzige an und für sich für Eiweissstoffe charakteristisch ist, so ist es für die sichere Erkennung unerlässlich, mehrere dieser Reactionen anzustellen.

Fällungsreactionen.

A. Fällungsreactionen: 1. Beim Sättigen einer Eiweisslösung mit Ammonsulfat fällt alles Eiweiss aus. Der Niederschlag ist unverändertes Eiweiss.

2. Beim Erhitzen einer Eiweisslösung, die durch Zusatz von verdünnter Essigsäure schwach sauer oder von Salpetersäure stark sauer gemacht ist, zum Kochen, entsteht ein Niederschlag von coagulirtem Eiweiss. Ist die Eiweisslösung salzfrei oder salzarm, so ist zunächst Salz z. B. das gleiche Volumen gesättigter Natriumsulfatlösung hinzuzufügen.

3. Durch Salpetersäure werden Eiweisslösungen schon in der Kälte gefällt. Bringt man unter eine Eiweisslösung in einem Reagensglas conc. Salpetersäure, so entsteht an der Berührungsstelle ein weisser Ring (Heller's Probe).

4. Fügt man zu einer Eiweisslösung etwas Salzsäure und dann tropfenweise vorsichtig Natriummetaphosphat, so entsteht ein im Ueberschuss der Säure und des Metaphosphats löslicher Niederschlag.

5. Salze der Schwermetalle (Kupfersulfat, Eisenchlorid, Sublimat, neutrales und basisches Bleiacetat u. a.) rufen Niederschläge hervor, die zum Theil im Ueberschuss des Fällungsmittels löslich sind.

6. Säuert man Eiweisslösung mit Essigsäure oder Salzsäure an und fügt dann einige Tropfen Ferrocyankalium hinzu, so entsteht ein weisser, flockiger Niederschlag. Ist die Flüssigkeit sehr reich an Kochsalz oder

anderen Salzen, so entsteht der Niederschlag erst nach Verdünnen mit Wasser. Spuren von Eiweiss geben diesen Niederschlag erst nach einigen Stunden gut erkennbar.

7. Wie Ferrocyankalium und Essigsäure wirken auch andere sogen. Alkaloïdreagentien fällend z. B. Phosphorwolframsäure + Salz- oder Schwefelsäure, Kaliumquecksilber- und Kaliumwismuthjodid + Salzsäure, Gerbsäure + Essigsäure, Pikrinsäure + Citronensäure, Trichloressigsäure.

Nach den Bestimmungen von Hofmeister[1]) geben die Eiweissstoffe des Blutserums mit Gerbsäure, Phosphorwolframsäure, Kaliumquecksilber- oder Kaliumwismuthjodid noch in 0,001 proc. Lösung erkennbare Fällung oder Trübung, mit Essigsäure und Ferrocyankalium höchstens noch in 0,002proc. Lösung. Die Anwendung dieses letzteren Reagens bietet aber gegenüber den andern den Vortheil, dass der in verdünnten Lösungen erhaltene und auf dem Filter gesammelte Niederschlag noch mit Hülfe der Farbenreactionen (siehe weiter unten) geprüft werden kann, was bei den durch die andern Reagentien erhaltenen Fällungen nicht ohne Gefahr von Täuschungen möglich ist.

B. Farbenreactionen. Mit Hülfe dieser Reactionen können ausser Flüssigkeiten auch feste Massen, sowie die nach 1, 2, 3, 4, 6 erhaltenen Niederschläge auf ihre Eiweissnatur geprüft werden. Farbenreactionen.

8. Biuretprobe. Mit überschüssiger Natronlauge*) und sehr wenig verdünnter Kupfersulfatlösung entsteht violette Färbung. Tritt sie nicht alsbald ein oder verschwindet sie bald, so ist noch mehr Kupfersulfat zuzusetzen, ein Ueberschuss aber sorgfältig zu vermeiden, da bei zuviel Kupferzusatz Blaufärbung eintritt, welche nicht charakteristisch ist.

9. Xanthoproteïnprobe. Mit einigen Tropfen starker Salpetersäure versetzt und erhitzt, tritt Gelbfärbung und auf nachherigen Zusatz von Ammoniak oder Natronlauge im Ueberschuss orangerothe Färbung ein. Diese Reaction beruht auf der Umwandlung aromatischer Atomcomplexe in gelbgefärbte Nitroderivate.

10. Millon's Probe. Mit Millon's Reagens (Anh.) erhitzt tritt purpurrothe Färbung ein. Diese Reaction beruht auf der Anwesenheit der Tyrosingruppe im Eiweissmolekül.

11. Adamkiewicz's Probe. Kocht man die zu prüfende Substsnz mit einer Mischung von 2 Vol. verdünnter Glyoxylsäure**) (Anh.) und 1 Vol. conc. Schwefelsäure oder versetzt man die Eiweisslösung mit dem gleichen Vol. der verdünnten Glyoxylsäure, fügt conc. Schwefelsäure hinzu und erwärmt, so entsteht schöne Violettfärbung. Bei passender Verdünnung zeigt die spectroskopische Prüfung einen Absorptionsstreifen zwischen b und F. Die Lösung zeigt auch schwache Fluorescenz. Diese Reaction

*) In kalter Natronlauge unlösliche Stoffe kocht man mit Natronlauge und prüft nach dem Erkalten.

**) Statt des ursprünglich von Adamkiewicz benutzten Eisessigs, dessen Wirksamkeit, wie Hopkins und Cole fanden, nur auf seinem Gehalt an Glyoxylsäure beruht. Proc. Roy. Soc. 68. 21. (1901.)

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie. 2. 288. (1878—1879.)

beruht auf der Anwesenheit der Säure $C_{11}H_{12}N_2O_2$ (§ 215) im Eiweissmolekül (Hopkins und Cole).

12. Schwefelbleiprobe. Beim Kochen mit wenig Bleiacetat und überschüssiger Natronlauge entsteht Gelb-, Braun- oder Schwarzfärbung oder auch ein schwarzer Niederschlag von Schwefelblei. Diese Reaction beruht auf der Anwesenheit von Cystin im Eiweissmolekül.

13. Molisch's Probe. Mit einigen Tropfen einer alkoholischen Lösung von α-Naphtol und etwas conc. Schwefelsäure entsteht rothe bis violette Färbung. Diese Reaction beruht wahrscheinlich auf der Anwesenheit eines Kohlehydratcomplexes im Eiweissmolekül (vergl. § 92, 9).

14. Liebermann's Probe. Lösungen von Eiweissstoffen in conc. Salzsäure nehmen bei gewöhnlicher Temperatur nach einiger Zeit, beim Erhitzen schneller, verschiedene Färbungen an, unter denen Grün, Blau, Violett besonders deutlich auftreten. Schliesslich entsteht braunschwarze Färbung mit Bildung von Niederschlag. Eine schöne tiefe Violettblaufärbung erhält man, wenn das Eiweiss zuvor mehrmals mit Alkohol ausgekocht und mit Aether behandelt worden ist.

Abscheidung aus Flüssigkeiten.

281. **Abscheidung der Eiweissstoffe aus Flüssigkeiten.** 1. Zur Abscheidung von nativen Eiweissstoffen aus Flüssigkeiten kocht man dieselben und fügt, falls nicht schon saure Reaction vorhanden ist, so lange verdünnte Essigsäure hinzu, bis eine gute flockige Gerinnung erreicht ist. Wegen der Löslichkeit der Albuminstoffe in überschüssiger Essigsäure ist es nöthig, mit dem Zusatz der Säure vorsichtig zu verfahren. Eine völlige Abscheidung, welche sich durch Ausbleiben jeglicher Trübung auf Zusatz von einem Tropfen Ferrocyankalium*) zum Filtrat zu erkennen giebt, wird auf diese Weise nur selten erreicht. Um auch die in Lösung gebliebenen Reste (sowie etwa vorhandenes Acidalbumin und Alkalialbuminat) zu entfernen, empfiehlt es sich nach Hofmeister (a. a. O.), das Filtrat mit frischgefälltem Bleioxydhydrat unter Zusatz von etwas Bleiacetat einige Minuten zu kochen und wieder zu filtriren. An Stelle des Bleioxydhydrats kann auch Zinkoxyd oder Zink- bezw. Bleicarbonat benutzt werden.

Die Entfernung von nativen Eiweissstoffen (sowie von Acidalbumin und Alkalialbuminat) lässt sich auch nach 2. und 3. erreichen:

2. Die Flüssigkeit, welche ausser nur wenig Essigsäure keine andere freie Säure enthalten darf, wird mit einer Lösung von essigsaurem Eisenoxyd in genügender Menge versetzt, zum Kochen erhitzt und so lange im Sieden erhalten, bis das Eisenoxyd als basisches Salz ganz ausgefällt ist. Die filtrirte Lösung soll eisenfrei sein. Es ist zuweilen zweckmässiger eine Mischung von Eisenchlorid und überschüssigem Natriumacetat anzuwenden (Hoppe-Seyler).

*) Durch Essigsäure und Ferrocyankalium werden allerdings auch manche Propeptone gefällt, doch scheinen diese in den thierischen Flüssigkeiten (mit Ausnahme der Verdauungsflüssigkeiten) für gewöhnlich nicht vorzukommen.

3. Ammon- oder Zinksulfat in Substanz wird bis zur vollständigen Sättigung bei Siedetemperatur und neutraler oder saurer Reaction eingetragen.

Fürchtet man den Einfluss hoher Temperatur auf andere in der Lösung befindliche Substanzen, so kann die Abscheidung von Eiweissstoffen (sowie von Acidalbumin und Alkalialbuminat) auch bewirkt werden:

4. Durch vorsichtigen Zusatz von Bleiessig, so lange ein Niederschlag entsteht, und nachträgliches Zufügen von wenigen Tropfen Ammoniak oder

5. Durch Gerbsäure, Kaliumquecksilberjodid oder Phosphorwolframsäure. Die Lösungen müssen hierbei freie Säure enthalten und zwar ist bei Anwendung der Gerbsäure schwach essigsaure, des Kaliumquecksilberjodids mässig salzsaure und der Phosphorwolframsäure stark essig-, salz- oder schwefelsaure Lösung zu empfehlen.

Propeptone (Albumosen) und Peptone, welche übrigens in den meisten thierischen Flüssigkeiten nicht vorkommen, werden durch die unter 1 und 2 aufgeführten Verfahren nicht oder nur unvollständig, vollständiger durch die unter 4 und 5 aufgeführten ausgefällt.

Ueber die Abscheidung der Eiweissstoffe vergl. auch „Untersuchung des Harns“ und „Untersuchung der serösen Flüssigkeiten“.

---

282. **Serumalbumin** findet sich reichlich im Blutplasma und Serum, in der Lymphe, im Chylus, in pathologischen Transsudaten und tritt bei Nierenkrankheiten von den Eiweissstoffen meist am Reichlichsten in den Harn über. Albumine: Serumalbumin. Vorkommen.

Um es aus Blutserum oder pathologischen Transsudaten in reinem Zustande zu gewinnen, sättigt man diese Flüssigkeiten bei 30° mit gepulvertem Magnesiumsulfat, wäscht den entstandenen Niederschlag (Serumglobulin) bei 30° mit gesättigter Magnesiumsulfatlösung aus und sättigt das Filtrat mit Ammoniumsulfat. Der abfiltrirte und ausgepresste Niederschlag wird in Wasser gelöst, durch Sättigen mit Ammoniumsulfat bei 40° wieder zur Abscheidung gebracht und abermals in Wasser gelöst. Nach Entfernung der Salze durch sehr anhaltende Dialyse gegen destillirtes Wasser fällt man die Lösung durch im Ueberschuss zugesetzten starken Alkohol, filtrirt den Niederschlag und wäscht ihn mit Alkohol und Aether (Hammarsten und Starke[1]). Statt dessen kann man auch das Filtrat der Magnesiumsulfatfällung mit 1 pCt. Essigsäure versetzen, den Niederschlag nach einigen Stunden abfiltriren, abpressen, in wenig Wasser lösen, die neutralisirte Lösung (event. nach mehrmaliger Wiederholung des ganzen Processes) durch Dialyse von Salz befreien und mit Alkohol fällen (Johansson[2]). Darstellung.

Krystallisirt ist es bisher nur aus Pferdeblutserum (und Kaninchenblutserum) erhalten worden (Gürber[3]). Man verfährt nach Gürber und Darstellung von krystall. Serumalbumin.

---

[1]) Maly's Jahresb. 1881. S. 17.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **9**. 310. (1885.)

[3]) Sitzungsber. d. phys. med. Ges. zu Würzburg. 1894. S. 143. Michel, Verh. d. phys. med. Ges. zu Würzburg. N. F. **29**. 117. (1895.)

Pemsel[1]) so: Pferdeblutserum wird mit dem gleichen Vol. gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt, nach mehrstündigem Stehen vom Niederschlag abfiltrirt und zum globulinfreien Filtrat $^{n}/_{5}$ Schwefelsäure bis zur Opalescenz zugefügt (auf 100 ccm Filtrat 6,8—7,5 ccm). Beim Stehen scheiden sich allmählich Krystalle ab, die durch Auflösen und Auskrystallisiren nach Zusatz von Ammonsulfatlösung und Säure gereinigt werden, aber schon nach ein- bis zweimaligem Umkrystallisiren amorph werden. Nach K. Mörner[2]) lösen sich die abgepressten Krystalle nur zum Theil in Wasser (Unterschied von Ovalbumin); eine völlige Lösung tritt auf Zusatz von ein wenig Natriumcarbonat ein und aus dieser Lösung lässt sich das Serumalbumin wieder krystallinisch gewinnen. Um ein salzfreies Präparat zu erhalten, wird die wässrige Lösung der Krystalle in heissen Alkohol gegossen und das Coagulum mit Wasser gewaschen.

Zusammensetzung. Die Zusammensetzung wurde gefunden für:

	C	H	N	S	
amorphes Serumalbumin aus Pleuratranssudat	52,25	6,65	15,88	2,27 pCt.	(Hammarsten u. Starke)
amorphes Serumalbumin aus Pferdeblutserum	53,05	6,85	16,04	1,79 „	(Hammarsten u. Starke)
krystallisirtes Serumalbumin aus Pferdeblutserum	53,08	7,1	15,93	1,9 „	(Michel).

Mörner fand, dass das Serumalbumin aus Pferdeblut Neigung hat, während seiner Darstellung eine feste Verbindung mit Schwefelsäure einzugehen. Nach ihrer Entfernung aus dem krystallisirten und coagulirten Präparate durch Auswaschen mit Ammoniak fand er 1,73 pCt. S. Der Procentgehalt des bleischwärzenden Schwefels beträgt 1,29 pCt. (Schulz[3]), Mörner). Der Schwefel ist vermuthlich nur in Form von Cystin oder einer cystinähnlichen Gruppe vorhanden (Mörner).

Coagulation. Das Serumalbumin ist klar in Wasser löslich, gerinnt in 1 proc. Lösung bei etwa 50°, durch Kochsalzzusatz wird die Coagulationstemperatur erheblich erhöht. In der Mischung mit Serumglobulin, wie es im Blutserum sich findet, tritt über 60° Trübung und bei 72 bis 75° flockige Fällung ein. Durch Schütteln der wässrigen, etwas salzhaltigen Lösung mit Aether wird es nicht coagulirt, in ziemlich salzfreier Lösung ist es durch starken Alkohol ohne Veränderung fällbar, bei Anwesenheit von etwas Salz wird es durch Alkohol coagulirt (Unterschied von Ovalbumin).

Optische Eigenschaften. Für amorphes Serumalbumin aus Pferdeharn fand Starke $[\alpha]_D =$ — 60,05°, für krystallisirtes derselben Herkunft Michel $[\alpha]_D = -61$ bis 61,2°.

Verhalten zu Säuren. Durch Kohlensäure, Essigsäure und andere in Wasser lösliche Fettsäuren wird das Serumalbumin nicht aus seinen wässerigen Lösungen gefällt. Wenn die Temperatur nicht hoch ist, auch die Säure in grosser Verdünnung angewendet wird und ihre Einwirkung nicht zu lange dauert, kann durch vor-

[1]) Bei Krieger, Dissert. Strassburg 1899.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **34**. 207. (1902.) [3]) Ebendas. **25**. 16. (1898.)

sichtiges Neutralisiren mit Calciumcarbonat, Soda oder verdünntem Ammoniak eine klare neutrale Lösung von Serumalbumin wieder erhalten werden. Je höher dagegen die Temperatur, je stärker die Concentration der zugesetzten Säure und je grösser ihre relative Quantität ist, desto schneller wird das Serumalbumin in Acidalbumin umgewandelt. Gegen Mineralsäuren ist es viel resistenter als das Eieralbumin. Versetzt man eine Lösung mit einer geringen Menge einer verdünnten Mineralsäure, so wird es weder gefällt noch verändert. Erst bei einem Salzsäuregehalt von 14—15 pCt. sind nach 1 Stunde bei Zimmertemperatur Acidalbumin und Propeptone in reichlicher Menge nachweisbar. Ein Niederschlag tritt bei dieser Concentration nur allmählich und in geringer Menge ein, erst nach vielen Stunden oder bei Erhöhung der Temperatur auf 40° wird er reichlich (Goldschmidt[1]). Der mit starker Salzsäure entstehende Niederschlag, der in Wasser gelöst die spec. Drehung $[\alpha]_D = -78,7°$ gezeigt hat und aus salzsaurem Acidalbumin besteht, löst sich im Ueberschuss der Salzsäure. Salze schwerer Metalle bilden meist schnell Acidalbumin. Auch der durch Essigsäure und Ferrocyankalium erzeugte Niederschlag wird nach kurzem Stehen in Acidalbumin umgewandelt.

Verhalten zu Alkalien.

Von verdünntem Ammoniak wird Serumalbumin nur allmählich verändert. Kali- und Natronlauge verwandeln es in wässeriger Lösung unter Steigerung der Circumpolarisation in Albuminat und Propeptone; selbst geringe Mengen Kali (0,2 pCt.) haben diese Wirkung. Concentrirte Kali- oder Natronlauge zu conc. Serumalbuminlösung gesetzt bringt die Lösung zur Erstarrung als gallertiges Alkalialbuminat.

Abspaltung von Chitosamin.

Langstein[2]) erhielt aus dem Serumalbumin nach vorausgegangener tiefgreifender Alkalibehandlung durch Kochen mit Säure in geringer Menge Chitosamin, dessen genauere Untersuchung noch aussteht.

Darstellung von krystallisirtem Ovalbumin.

283. **Ovalbumin (Eieralbumin).** Die ersten Untersuchungen über Abscheidung, Zusammensetzung und Eigenschaften des Eieralbumins stammen von Hammarsten und Starke (a. a. O.). Doch war das von ihnen untersuchte Präparat vermuthlich ein Gemenge. Reines krystallisirtes Ovalbumin erhält man nach dem von Hopkins und Pinkus[3]) modificirten Verfahren von Hofmeister[4]) in folgender Weise: Das Weisse frischer Hühnereier wird mit genau der gleichen Menge gesättigter Ammonsulfatlösung zu Schaum geschlagen und nach einigen Stunden oder am nächsten Tag filtrirt. Zu dem Filtrat lässt man aus einer Bürette 10 proc. Essigsäure zufliessen, bis es milchig wird und fügt dann noch für je 100 ccm 1 ccm der Essigsäure hinzu. Der Niederschlag ist zunächst amorph, aber schon nach etwa 1 Stunde erkennt man mikroskopisch den Beginn der Krystallisation und,

---

[1]) Diss. Strassburg 1898. [2]) Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. **I.** 259. (1902.)
[3]) Journ. of Physiol. **25.** 306. (1900.)
[4]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **16.** 187. (1892.)

wenn die Mischung gelegentlich geschüttelt wird, ist nach 4 oder 5 Stunden Alles krystallinisch geworden. Nach 24 Stunden werden die Krystalle abfiltrirt und zwei oder dreimal mit halbgesättigter Ammonsulfatlösung, die 1 pM. Essigsäure enthält, gewaschen, dann in wenig Wasser gelöst (10 bis 12 proc. Lösung). Zu der Lösung fügt man nach und nach unter gelegentlichem leisem Schütteln kleine Mengen Ammonsulfatlösung, bis ein bleibender Niederschlag (nicht nur Trübung) entsteht und dann noch 2 ccm auf je 1 Liter. Der Niederschlag wird schnell krystallinisch und die Abscheidung ist in 24 Stunden beendet. Durch leises Schütteln des Gefässes wird sie sehr begünstigt. Bei der mikroskopischen Prüfung sieht man nur Krystalle u. z. in Garben zusammenliegende feine Nadeln, die abfiltrirt eine schneeweisse Masse darstellen. Aus 1000 ccm Eiereiweiss erhält man 50 g oder mehr. Zur vollkommenen Entfernung des Ovomucoïds ist mehrmaliges Umkrystallisiren zu empfehlen. Die wiederabgeschiedenen Krystalle sind stets in Wasser leicht löslich (K. A. H. Mörner). Durch Waschen mit 1 pCt. Essigsäure enthaltender gesättigter Kochsalzlösung lassen sich die Krystalle völlig von Ammonsulfat befreien. Um das Ovalbumin salzfrei zu erhalten, giesst man die wässerige Krystalllösung in Alkohol und wäscht das entstandene Coagulum mit Wasser.

Langstein[1]), welcher die Krystallisation durch Zufügen von Schwefelsäure (anstatt Essigsäure) bewirkt, empfiehlt bei der Darstellung folgende Punkte zu berücksichtigen: Die Ammonsulfatlösung muss gegen Lacmoïd völlig neutral reagiren. Das Eiweiss jedes Eies muss auf seine Reaction geprüft werden und darf nur, wenn diese gegen Lacmus alkalisch ist, benutzt werden. Das Alter der Eier ist ohne Bedeutung. Die Krystallisation ist bei Zimmertemperatur vorzunehmen.

Zusammensetzung. Die Zusammensetzung wurde gefunden:

C	H	N	S	
53,28	7,26	15,00	1,09 pCt.	(Hofmeister)
52,70	7,12	15,43	1,57 „	(Hopkins)
52,75	7,10	15,51	1,62 „	(Osborne u. Campbell[2])
52,46	7,19	15,29	1,34 „	(Langstein).

Osborne und Campbell fanden im Gegensatz zu den anderen noch 0,12 pCt. P. Der Procentgehalt des bleischwärzenden Schwefels beträgt 0,43 bis 0,49 (Schulz (a. a. O.), Osborne[3]), Mörner). Der Schwefel ist nur zum Theil als Cystin, zum Theil in anderer Form vorhanden. Bei der hydrolytischen Spaltung entstehen flüchtige Schwefelverbindungen, aber kein Schwefelwasserstoff (Mörner). Eieralbumin hat nicht die Neigung, Schwefelsäure zu binden, wie das Serumalbumin.

Coagulation. 2,5—5 proc. Lösungen von krystallisirtem Ovalbumin in reinem Wasser trüben sich bei 60° und werden bei 64° flockig gefällt. Anwesenheit von Kochsalz erhöht den Coagulationspunkt, bei 10 pCt. Kochsalzgehalt trübt

---

1) Beitr. z. chem. Physiol. u. Path. I. 83. (1902.)
2) 23. Report of the Connecticut Agricultural Exper. Station 1900. p. 348.
3) Stud. f. the Res. Labor. of the Connecticut agr. exp. stat. Report f. 1900. p. 443.

sich eine 2,5 proc. Lösung bei 68° und gerinnt flockig bei 70° (Osborne und Campbell). Durch Schütteln der wässerigen Lösung mit und ohne Aether wird es allmählich coagulirt, Alkohol coagulirt salzhaltige und ziemlich salzfreie Lösungen (Unterschied von Serumalbumin).

Die specifische Drehung für krystallisirtes Ovalbumin beträgt $[\alpha]_D = -30,70°$ (unabhängig von Anwesenheit von Ammonsulfat) (Hopkins); ganz ähnliche Werthe fanden Osborne und Campbell. Optische Eigenschaften.

Gegen Säure ist Eieralbumin viel weniger resistent als Serumalbumin, schon bei 0,2—0,3 pCt. Salzsäuregehalt der Lösung ist nach 1 Stunde reichlich Acidalbumin und Propepton nachweisbar. Bei 3,6 pCt. Salzsäuregehalt entsteht sofort ein voluminöser, flockiger Niederschlag, der sich gegen den weiteren Angriff der Säure auch bei 40° äusserst widerstandsfähig erweist (Goldschmidt). In starker Salzsäure löst sich Eieralbumin schwieriger als Serumalbumin. Durch starke Kalilauge wird es in genügend conc. Lösung in eine fest gallertige Masse verwandelt (Lieberkühn's Alkalialbuminat), aber auch schon bei schwach alkalischer Reaction (0,25 pCt.) beginnt alsbald die Umwandlung in Alkalialbuminat. Durch Einwirkung von Säuren und Alkalien wird die specifische Rotation der Lösungen des Eieralbumins erhöht, ohne dass sie jemals die Höhe der specifischen Rotationen des Serumalbumins erreicht. Verhalten zu Säuren und Alkalien.

Beim Kochen des am Besten vorher in Alkali gequollenen Ovalbumins mit Salzsäure wird Chitosamin abgespalten (Seemann[1]), Langstein[2]); unter den beim Kochen mit Barytwasser entstehenden Spaltungsproducten fand Fränkel das Albamin (§ 182). Abspaltung von Chitosamin.

284. **Conalbumin** nennen Osborne und Campbell (a. a. O.) ein Albumin, das sie im Hühnereiweiss neben dem Ovalbumin fanden. C 52,25; H 6,99; N 16,11; S 1,70 pCt. Es hat einen niedrigeren Coagulationspunkt und eine höhere specifische Drehung, als das Ovalbumin und ist nicht krystallisirt erhalten worden. Beim Kochen mit Salzsäure wird ebenfalls Chitosamin abgespalten (Langstein[3]).

285. **Lactalbumin.** Zu seiner Darstellung sättigt man Milch oder Colostrum bei 30° mit Magnesiumsulfat, fällt das Filtrat durch Zusatz von 0,5—1 pCt. Essigsäure und filtrirt ab. Der abgepresste Niederschlag wird in wenig Wasser gelöst, die Lösung genau mit Natronlauge neutralisirt, anhaltend gegen destillirtes Wasser dialysirt und nach Eindunsten in flacher Schale bei 30—40° auf kleines Volumen mit starkem Alkohol gefällt. Der mit Alkohol und Aether gewaschene und getrocknete Niederschlag stellt ein feines, weisses Pulver dar (Sebelien[4]). Von Wichmann[5]) wurde es krystallisirt erhalten. Darstellung.

Die amorphe Substanz hat die Zusammensetzung C 52,19; H 7,18; N 15,77; S 1,73 pCt. Es stimmt mit dem Serumalbumin in der Gerin- Eigenschaften.

---

[1]) Dissert. Marburg 1898. [2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **31**. 49. (1901.)
[3]) Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. **1**. 100. (1902.)
[4]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **9**. 453. (1885.) [5]) Ebendas. **27**. 575. (1899.)

nungstemperatur und in seinem Verhalten gegen Säuren und Alkalien überein, dreht aber bedeutend schwächer. $[\alpha]_D = -36,4$ bis $36,98^0$.

Darstellung. 286. **Myogen** (Myosinogen von Halliburton[1]). Zur Darstellung nach v. Fürth[2]) dient die Pressflüssigkeit frischer durch Ausspülen mit 0,6 proc. Kochsalzlösung blutfrei gemachter, quergestreifter Muskeln von Wirbelthieren z. B. Kaninchen. Dieses Muskelplasma wird entweder dialysirt, nach dem Filtriren zur Entfernung von Myosinresten auf 52^0 erhitzt, wieder filtrirt und mit Alkohol gefällt oder mit $1^1/_4$ Vol. gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt und nach Abfiltriren der Fällung mit gepulvertem Ammonsulfat gesättigt. Den abfiltrirten, mit gesättigter Ammonsulfatlösung gewaschenen und abgepressten Niederschlag löst man in Wasser, erhitzt die wässrige Lösung auf 40^0 (zur Entfernung von löslichem Myogenfibrin), filtrirt und fällt das Filtrat mit Alkohol.

Eigenschaften. Die Lösungen coaguliren, schnell erhitzt, zwischen 55 und 65^0; sie werden durch Sättigung mit Kochsalz oder Magnesiumsulfalt etwas (wenn auch nur sehr unvollkommen) gefällt, durch Halbsättigung mit Ammonsulfat noch nicht, aber durch Sättigung mit diesem Salze vollkommen. Mineralsäuren geben im Ueberschuss lösliche Fällungen, Essigsäure und ebenso Schwermetallsalze nur bei Gegenwart von Neutralsalzen. Eine Lösung von Myogen mit Natronlauge vorsichtig erwärmt giebt auf Zusatz von 15 proc. Salmiaklösung einen voluminösen, gallertigen Niederschlag (Unterschied von Myosin).

Während salzfreie Myogenlösungen beständiger sind, kommt es in salzhaltigen, besonders beim Erwärmen auf 30—40^0, zur Bildung von löslichem Myogenfibrin (bei 40^0 coagulirend) und weiterhin zur Abscheidung von Myogenfibrin. Diese Umwandlung wird befördert durch die Anwesenheit mancher Substanzen z. B. Calcium- oder Ammoniumchlorid, Rhodannatrium, salicylsaurem Natron, Coffeïnsalzen u. s. w. Das Myogen wird sehr leicht in Acidalbumin umgewandelt, schon durch 1 proc. Essigsäure.

lösliches Myogenfibrin. Myogenfibrin.

Der aus den Wirbellosen durch ein entsprechendes Verfahren erhaltene Eiweissstoff stimmt mit dem Myogen nicht überein (v. Fürth[3]), Przibram[4]). Der aus glatten Muskelfasern gewonnene ist noch nicht genügend untersucht. Die vorliegenden Angaben stimmen nicht überein (Velichi[5]), Vincent[6]).

Globuline: Myosin. 287. **Myosin.** Mit diesem Namen bezeichnet man sowohl das aus frischem Muskelplasma dargestellte und von Halliburton (a. a. O.) Paramyosinogen genannte Globulin als auch das aus todter Muskelsubstanz gewonnene. Die Angaben über das Verhalten beider z. B. in Bezug auf die Coagulations-

---

1) Journ. of Physiol. **8.** 133. (1887.)
2) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **36.** 231. (1895) u. **37.** 389. (1896.)
3) Zeitschr. f. physiol. Chem. **31.** 338. (1900—1901.)
4) Beitr. z. chem. Phys. u. Pathol. **2.** 143. (1902.)
5) Centralbl. f. Physiol. **12.** 351. (1899.)
6) Zeitschr. f. physiol. Chem. **34.** 417. (1901—1902.)

temperatur, Fällbarkeit durch Salze sind nicht ganz übereinstimmend. Ob diese Verschiedenheiten durch die Annahme, dass das aus den todten Muskeln erhaltene Globulin mit Myogen verunreinigt ist, ihre Erklärung finden, bedarf weiterer Untersuchung.

Zur Darstellung aus Muskelplasma nach v. Fürth[1]) wird die Pressflüssigkeit frischer durch Ausspülen mit physiologischer Kochsalzlösung blutfrei gemachter (Kaninchen-) Muskeln entweder der Diffusion unterworfen oder mit $^3/_4$ Vol. gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt. Die abgeschiedene Substanz wird mit physiologischer Kochsalzlösung behandelt, filtrirt, das Filtrat wieder mit $^3/_4$ Vol. gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt und Lösung und Fällung nochmals wiederholt. Die ganze Darstellung muss schnell geschehen; trotzdem ist die Ausbeute eine geringe, da das Myosin die Neigung hat, unlöslich zu werden. Um das Myosin aus todten Muskeln zu erhalten, wird die gut zerkleinerte, schnell mit kaltem Wasser sorgfältig ausgewaschene Masse mit 10—15 proc. Salmiaklösung zusammengerührt, einige Stunden stehen gelassen und zuerst durch Leinwand, dann durch Papier filtrirt. Man lässt die Lösung in Wasser tropfen, wäscht die ausgeschiedenen Gerinnsel mit Wasser gut aus, löst sie wieder in Salmiaklösung und fällt abermals mit Wasser (Danilewsky[2]). Darstellung.

Die wässerige Lösung des Myosins aus Muskelplasma trübt sich bei längerem Stehen spontan, schneller beim Erwärmen bis auf 35°; der Niederschlag, Myosinfibrin, ist in Neutralsalzlösungen unlöslich und zeigt die Eigenschaften coagulirter Albuminstoffe. Bei schnellem Erhitzen auf 44—47° trübt sich die Lösung; ein Niederschlag erfolgt bei 47—50°, eine vollständige Abscheidung bei 50—53° (v. Fürth). Die Salmiaklösung des aus todten Muskeln dargestellten Myosins beginnt bei 42° sich zu trüben und wird bei 55° flockig coagulirt (Danilewsky). Coagulation. Myosinfibrin.

Beim Zufügen von Ammonsulfat zu einer Lösung von Myosin (aus Muskelplasma) beginnt die Fällung bei 12—17 pCt. Salzgehalt und ist bei 28 pCt. beendet (v. Fürth). Das aus todten Muskeln gewonnene Myosin verlangt zu seiner Abscheidung aus Lösungen einen höheren Procentgehalt an Magnesiumsulfat als das aus Muskelplasma gewonnene (Halliburton). Säuren rufen in Myosinlösungen Niederschläge hervor, die im Ueberschuss sich leicht lösen. Myosin wird durch Säuren und Alkalien leicht in Acidalbumin resp. Alkalialbuminat umgewandelt. Eigenschaften.

Aus glatter Muskulatur erhält man nach dem Verfahren von v. Fürth ein Globulin, über dessen Eigenschaften Velichi (a. a. O.) und Vincent (a. a. O.) abweichende Angaben machen, das aber jedenfalls nicht mit dem Myosin übereinstimmt. Ebenso ist das aus dem Muskelplasma der Wirbellosen dargestellte Myosin kein typisches (v. Fürth[3]).

288. **Fibrinogen** enthalten alle diejenigen Flüssigkeiten, welche beim ruhigen Stehen bei gewöhnlicher Temperatur von selbst gerinnen unter Bil- Vorkommen.

---

[1]) Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm. **36.** 231. (1895.)

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **5.** 158. (1881.) [3]) Ebendas. **31.** 338. (1900—1901.)

dung von Fibrin (Blut, Lymphe) oder zur Gerinnung gebracht werden, wenn man einige Tropfen der aus frischem, geronnenen Blute ausgepressten Flüssigkeit zu einer Probe derselben hinzufügt und die Mischung eine Zeit lang stehen lässt.

Darstellung. Zur Darstellung wird durch Oxalatzusatz (0,3 pCt.) ungerinnbar gemachtes (Pferde-) Blut centrifugirt, das Plasma über Nacht bei 0° stehen gelassen, filtrirt und mit dem halben Vol. gesättigter Kochsalzlösung versetzt; die von dem geringfügigen Niederschlag abfiltrirte Flüssigkeit wird nun mit soviel gesättigter Kochsalzlösung versetzt, dass auf 1 Th. Oxalatplasma 2 Th. kommen. Der jetzt entstehende Niederschlag wird in 6—8 proc. Kochsalzlösung gelöst, mit dem gleichen Vol. gesättigter Kochsalzlösung gefällt und dieses Verfahren mehrmals wiederholt. Löst man jetzt den stark abgepressten Niederschlag in Wasser und diffundirt gegen ganz schwache (0,003 proc.) Natronlauge, so erhält man eine salzfreie oder fast salzfreie reine Fibrinogenlösung, aus der durch Alkohol das Fibrinogen abgeschieden werden kann (Hammarsten[1]). Nach Reye[2]) gewinnt man Fibrinogen durch Versetzen von 12 Th. durch Fluornatrium (0,56—0,6 pCt.) ungerinnbar gemachten Plasmas mit 30 Th. Wasser und 16 Th. gesättigter Ammonsulfatlösung und Auswaschen des abfiltrirten Niederschlags mit entsprechend conc. Ammonsulfatlösung als schneeweissen, flockigen Niederschlag, der an der Luft getrocknet und bei 80° coagulirt mit heissem Wasser salzfrei gewaschen werden kann.

Zusammensetzung. Das aus Pferdeblut dargestellte Fibrinogen hat die Zusammensetzung: C 56,93; H 6,90; N 16,66; S 1,25 pCt. (Hammarsten). Mörner fand 1,13 pCt. S und 0,465 pCt. bleischwärzenden Schwefel. Der Schwefel ist nur zum Theil, vielleicht zur Hälfte, in Form von Cystin vorhanden (Mörner).

Coagulation. Seine salzhaltige Lösung coagulirt nach Hammarsten[3]) bei 52—55°, nach Frédéricq[4]) bei 55—56°.

Eigenschaften. Kohlensäure und verdünnte Säuren rufen Fällungen hervor, die alsbald in verd. Salzlösungen unlöslich werden. Durch das gleiche Vol. gesättigter Kochsalzlösung werden selbst sehr verdünnte Fibrinogenlösungen ziemlich reichlich gefällt, während Serumglobulin bei diesem Salzgehalt (16 pCt.) nur dann ausfällt, wenn es sehr reichlich vorhanden ist; auch durch Ammonsulfat wird es schon bei einem geringeren Salzgehalt gefällt als Serumglobulin. In salzfreien, mit sehr wenig Alkali hergestellten, nicht aber in salzhaltigen Lösungen ruft Chlorcalcium einen Niederschlag von Fibrinogenkalk hervor. Das durch Aussalzen, durch Wasserzusatz oder durch Säure ausgeschiedene Fibrinogen verliert sehr leicht die Fähigkeit, sich wieder zu lösen.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **22**. 333. (1897) u. **28**. 98. (1899), Arch. f. d. ges. Physiol. **19**. 563. (1879) u. **22**. 431. (1880) u. Maly's. Jahresb. 1882. S. 11.

[2]) Dissert. Strassburg. 1898.

[3]) Maly's Jahresb. 1876. S. 15.

[4]) Bull. de l'acad. de Belg. [2] **64**. No. 7. (1877.)

Für Fibrinogen aus Pferdeblut fand Mittelbach[1]) $[\alpha]_D = -52,5^0$, für Fibrinogen aus Rinderblut Cramer[2]) $[\alpha]_D = -36,8^0$. Dieses aus Rinderblut dargestellte zeigte auch eine abweichende Zusammensetzung. Optische Eigenschaften.

Auf Zusatz von Fibrinferment gerinnt eine Fibrinogenlösung unter Abscheidung von Fibrin (§ 296), in Lösung bleibt Fibringlobulin (§ 289). Verhalten zu Fibrinferment.

289. **Fibringlobulin** nennt Hammarsten[3]) ein bei etwa 64⁰ coagulirendes Globulin von der Zusammensetzung C 52,70; H 6,98; N 16,06 pCt. (Schwefel wurde nicht bestimmt), welches aus Fibrinogenlösung, nachdem sich die Umwandlung zu Fibrin vollzogen hat, durch Sättigung mit Kochsalz abgeschieden werden kann. Es ist auch im Blutserum vorhanden und lässt sich durch Versetzen von 2 Th. Serum mit 5,2 Th. Wasser und 2,8 Th. gesättigter Ammonsulfatlösung zusammen mit anderen Stoffen abscheiden (Hammarsten[4]). Beim Erhitzen einer Fibrinogenlösung auf 55—60⁰ bleibt gleichfalls ein Körper von obiger Coagulationstemperatur in Lösung (Hammarsten[5]) und desgleichen bei der Fällung einer Fibrinogenlösung mit Essigsäure (Frederikse[6]). Die Beziehungen des Fibringlobulins zum Fibrinogen sind noch nicht aufgeklärt.

290. **Serumglobulin** (Paraglobulin, fibrinoplastische Substanz) ist in Blut, Lymphe, Transsudaten, anscheinend in sehr geringer Menge in der Milch (Sebelien[7]) und krankhafter Weise auch im Harn vorhanden. Vorkommen.

Nach Hammarsten[8]) wird es gewonnen durch Verdünnen des schwach mit Essigsäure angesäuerten Blutserums mit der 10—15 fachen Menge Wasser und Reinigen des entstandenen Niederschlags entweder durch wiederholtes Auflösen in möglichst verdünntem Alkali und Fällen mit wenig Essigsäure oder durch Auflösen in verdünnter Kochsalzlösung und Fällen mit Wasser. Nach Reye (a. a. O.) erhält man Serumglobulin, indem man 2 Th. Serum mit 5 Th. Wasser und 3 Th. gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt, von dem entstandenen Niederschlag (Fibringlobulin) abfiltrirt und zu dem Filtrat so viel Ammonsulfatlösung zufügt, dass eine nahezu halb gesättigte Lösung von Ammonsulfat entsteht. Das dabei ausfallende Globulin wird mehrfach in Wasser gelöst und mit Ammonsulfat gefällt. Darstellung.

Mittlere Zusammensetzung C 52,71; H 7,01; N 15,85; S 1,11 pCt. (Hammarsten). K. A. H. Mörner (a. a. O.) fand 1,02 pCt. S und 0,67 pCt. bleischwärzenden Schwefel. Wahrscheinlich ist die Gesammtmenge des Schwefels als Cystin vorhanden (Mörner). Zusammensetzung u. Eigenschaften.

Coagulationstemperatur in 10 proc. Kochsalzlösung 69—76⁰ (Hammarsten). Die Lösungen werden durch Sättigung mit Magnesiumsulfat bei gewöhnlicher Temperatur vollkommen, durch Sättigung mit Kochsalz nur unvollkommen gefällt (Hammarsten). Coagulation.

Das aus Rinder- und Pferdeblut nach dem Säureverfahren dargestellte

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **19**. 289. (1894.) 2) Ebendas. **23**. 74. (1897.)
3) Maly's Jahresber. f. 1882. S. 11.
4) Zeitschr. f. physiol. Chem. **28**. 98. (1899.)
5) Arch. f. die ges. Physiol. **22**. 431. (1880.)
6) Zeitschr. f. physiol. Chem. **19**. 143. (1894.) 7) Ebendas. **9**. 445. (1885.)
8) Arch. f. d. ges. Physiol. **17**. 413. (1878), **18**. 38. (1878), **22**. 431. (1880.)

Optische Eigenschaften. Serumglobulin zeigt in verdünnter Kochsalz- oder Magnesiumsulfatlösung $[\alpha]_D = -47,8^0$ (Frédéricq[1]).

Abspaltung von Kohlehydrat. Beim Kochen mit Säuren wird ein reducirendes und Osazon bildendes Kohlehydrat abgespalten (K. A. H. Mörner[2]).

Das durch Ammonsulfat oder Magnesiumsulfat aus dem Serum dargestellte Globulin scheidet sich bei der Dialyse seiner Lösung z. Th. ab (wasserunlöslicher Theil), z. Th. bleibt es in Lösung (wasserlöslicher Theil). Indessen entspricht auch der letztere in Zusammensetzung, Drehung, Coagulationstemperatur und Verhalten gegen Fällungsmittel den oben gemachten Angaben (Hammarsten[3]), Marcus[4]). Fuld und Spiro[5]) haben das Serumglobulin durch fractionirte Fällung mit Kaliumacetat oder Ammonsulfat in einen durch Halbsättigung mit Kaliumacetat, Essigsäure und Dialyse fällbaren Körper (Euglobulin) und einen durch diese Mittel nicht fällbaren (Pseudoglobulin) getrennt. Vergleiche demgegenüber K. A. H. Mörner[6]), welcher das Serumglobulin für einen einheitlichen Körper hält.

291. **Glutolin.** Faust[7]) isolirte aus dem hauptsächlich Serumglobulin enthaltenden Niederschlag, welcher beim Versetzen von Pferdeblutserum mit dem gleichen Vol. gesättigter Ammonsulfatlösung entsteht, einen Körper von der Zusammensetzung C 51,21; H 7,24; N 17,47; S 0,64 pCt., der in Neutralsalzlösungen jeder Concentration unlöslich, nur in Alkalien und Ammoniak löslich und aus diesen Lösungen durch Säure wieder fällbar war. Er gab die Biuret- und die Millon'sche Reaction, letztere nicht sehr stark, nicht oder nur sehr schwach die Schwefelbleiprobe (§ 280 B). Bei der hydrolytischen Spaltung entstand Glykocoll. Faust hält das Glutolin für eine Zwischenstufe zwischen den Eiweissstoffen und Glutin. Die Methode der Darstellung (es wurde 0,5 proc. Kalilauge angewendet) erregt den Verdacht, dass es sich um ein Umwandlungsproduct des Serumglobulins handelt. Der Nachweis des Glykocolls unter den Spaltungsproducten spricht nicht dagegen, da dieses auch aus Serumglobulin erhalten wurde (Spiro[8]).

292. **Krystallisirendes Globulin aus Harn** wurde ein einziges Mal aus dem Harn eines Kranken von Noël-Paton[9]) gewonnen. Der Harn schied, manchmal schon nach 1—2 Tagen, ein reichliches, krystallinisches Sediment (lange, schmale Tafeln mit zweiflächiger, stumpfwinkliger Zuspitzung) ab, unlöslich in Wasser, gesättigter Kochsalz- und Magnesiumsulfatlösung, halbgesättigter Ammonsulfatlösung, löslich in verdünnten Neutralsalzlösungen, Säuren, Alkalien. Zusammensetzung: C 51,89; H 6,88; N 16,06; S 1,24 pCt. Die Lösungen in Neutralsalz coagulirten bei 56—59^0. Durch verdünnte Salzsäure wurde es langsam in der Kälte, schnell in der Wärme in Acidalbumin umgewandelt. Seine Lösungen konnten durch Blut nicht zur Gerinnung gebracht werden.

293. Die Globulinsubstanz des Hühnereiweiss, von Eichholz als Ovomucin bezeichnet, lässt sich durch Halbsättigung des Eiweiss mit Ammonsulfat abscheiden. Beim Kochen mit Säuren spaltet sie Chitosamin ab. Die Substanz bedarf weiterer Untersuchung. Siehe besonders die Untersuchung von Langstein[10]), wo auch die früheren Arbeiten besprochen sind.

---

1) Arch. de biol. **1.** 17. (1880). 2) Centralbl. f. Physiol. **7.** 581. (1894.)
3) Zeitschr. f. physiol. Chem. **8.** 467. (1884.) 4) Ebendas. **28.** 559. (1899.)
5) Ebendas. **31.** 140. (1901.) 6) Ebendas. **34.** 253. (1902.)
7) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **41.** 309. (1898.)
8) Zeitschr. f. physiol. Chem. **28.** 174. (1899.)
9) Reports f. the Lab. of the Roy. coll. of Physic. Edinburg. **4.** 47. (1892), Huppert, Zeitschr. f. physiol. Chem. **22.** 500. (1897.) Centralbl. f. d. med. Wiss. 1898. S. 481.
10) Beitr. z. chem. Physiol. u. Path. **1.** 83. (1902.)

294. **Globuline der Krystalllinse** wurden von C. Th. Mörner[1]) genauer untersucht und unterscheiden sich von den anderen Globulinen dadurch, dass sie aus ihren Lösungen durch Wasser nicht gefällt werden können; dagegen werden sie durch Sättigung mit Magnesiumsulfat und Natriumsulfat bei 30° und durch das anderthalbfache Vol. gesättigter Ammonsulfatlösung völlig ausgeschieden.

α-Krystallin fällt aus dem filtrirten Wasserauszug der Linsen durch vorsichtigen Essigsäurezusatz aus und kann durch wiederholtes Lösen in ganz verdünntem Ammoniak und Fällen mit Essigsäure gereinigt werden. Es ist aus wässeriger, salzfreier oder salzarmer Lösung durch Kohlensäure und vorsichtigen Zusatz von Essigsäure fällbar, hat die Zusammensetzung C 52,83; H 6,94; N 16,68; S 0,56 pCt. und coagulirt bei etwa 72°. $[\alpha]_D = -46,9°$ (annähernd). α-Krystallin.

β-Krystallin wird dargestellt, indem man den filtrirten, wässerigen Auszug des inneren Viertels der Linsen vorsichtig mit verdünnter Essigsäure ausfällt, das neutralisirte Filtrat mit Magnesiumsulfat sättigt und die dialysirte Lösung des Niederschlags mit Alkohol fällt. Es ist aus seiner salzfreien Lösung nur unvollkommen durch Kohlensäure und Essigsäure fällbar, enthält 17,4 pCt. N und 1,27 pCt. S und coagulirt bei 63°. $[\alpha]_D = -43,2°$. β-Krystallin.

295. **Thyreoglobulin.** Das jodhaltige Globulin der Schilddrüse erhält man nach Oswald[2]) als schneeweisse Masse, indem man den Wasserauszug der fein zerkleinerten Drüsensubstanz mit dem gleichen Vol. gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt, den mit halbgesättigter Ammonsulfatlösung gewaschenen Niederschlag in Wasser löst, klar filtrirt, Fällung und Lösung wiederholt und nun entweder direct mit Essigsäure fällt und den Niederschlag auf dem Filter mit schwach angesäuertem Wasser salzfrei wäscht oder dialysirt und mit Alkohol fällt. Darstellung.

Die aus den Schilddrüsen verschiedener Thiere und des Menschen erhaltenen Präparate stehen einander in Eigenschaften und Zusammensetzung nahe, enthalten aber verschiedene Jodmengen. Das Thyreoglobulin aus Schweinedrüsen: C 52,21; H 6,83; N 16,59; J 0,46; S 1,86 pCt. Die aus Züricher Kälbern gewonnenen Präparate waren jodfrei. In 10 pCt. Magnesiumsulfat enthaltender Lösung coaguliren die Präparate aus Schweinedrüsen bei 65—66°, die aus Hammel-, Ochsen-, Kalbsdrüsen bei 67°. Durch Sättigen der Lösungen mit Kochsalz tritt nur Trübung ein, durch Sättigung mit Magnesiumsulfat oder Halbsättigung mit Ammoniumsulfat Ausfällung. Durch verdünnte Essig- oder Salzsäure wird es aus seinen salzhaltigen Lösungen gefällt. Der Niederschlag löst sich im Ueberschuss des Fällungsmittels. Das Jod ist in fester Bindung, erst nach dem Veraschen mit Natron Zusammensetzung und Eigenschaften. Coagulation.

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **18.** 61. (1894.)
2) Ebendas. **27.** 14. (1899.) **32.** 121. (1901.)

und Salpeter nachweisbar (§ 58); beim Kochen mit conc. Salzsäure tritt der grösste Theil des Jods aus der organischen Bindung heraus. Nach dem Kochen mit verdünnter Säure reducirt die Flüssigkeit Fehling'sche Lösung, ausserdem entsteht Jodothyrin (Thyreojodin), ein Körper, den zuerst Baumann[1]) aus der mit Säure gekochten Schilddrüse gewonnen hat. Bräunliches, nicht einheitliches, in Wasser unlösliches, in Alkalien lösliches Pulver mit wechselndem Jodgehalt (bis über 14 pCt.).

Jodothyrin.

Umwandlungsproducte der nativen Eiweissstoffe.

Darstellung.

296. **Fibrin.** Es entsteht aus Fibrinogen (§ 288) bei der Gerinnung des aus der Ader gelassenen Blutes, bei der Gerinnung von Lymphe, Transsudaten, von reiner Fibrinogenlösung nach Zusatz von Fibrinferment als Gallerte, die sich allmählich zusammenzieht und beim Schlagen faserig und elastisch wie Kautschuck wird. Frei von eingeschlossenen Blutkörperchen erhält man es aus filtrirtem Pferdeblutplasma und Transsudaten. Mit sehr verdünnter Chlornatriumlösung lässt es sich gut auswaschen.

Zusammensetzung und Eigenschaften.

Seine Zusammensetzung ist in guter Uebereinstimmung mit zahlreichen älteren Analysen von Hammarsten[2]) gefunden zu C 52,68; H 6,83; N 16,91; S 1,10; O 22,48 pCt. Das nicht erhitzte und nicht mit Alkohol behandelte Fibrin löst sich langsam unter Quellung in nicht zu verdünnten und nicht zu concentrirten wässerigen Lösungen neutraler Salze wie Kalium- oder Natriumnitrat, Chlornatrium, Bromkalium, Jodkalium, chlorsaurem Kali. Magnesiumsulfat oder Ammoniumsulfat wirken in concentrirter Lösung nicht lösend. In verdünnter Salzsäure ebenso in Essigsäure oder Alkalilauge quillt frisches Fibrin hoch auf und löst sich sehr langsam; in sehr verdünnter Salzsäure löst es sich zunächst fast gar nicht. Es giebt die in § 280 B beschriebenen Farbenreactionen. Durch Einwirkung von Alkohol wird es coagulirt, noch schneller durch Erhitzen auf 75°. Coagulirtes Fibrin ist weniger durchscheinend weiss und weniger dehnbar als frisches; bei der Pepsin- oder Trypsinverdauung und bei der Fäulniss geht es langsamer in Lösung, ohne dass sich die Bildung von Globulinen (wie das bei frischem Fibrin der Fall ist) nachweisen lässt[3]).

Darstellung.

297. **Coagulirte Albuminstoffe** entstehen aus Albuminen, Globulinen, Fibrin durch Erhitzen bei Anwesenheit von Wasser oder durch längere Einwirkung von Alkohol in neutraler Lösung, ferner durch anhaltendes Schütteln der wässerigen Lösungen.

Eigenschaften.

Sie sind sämmtlich in kaltem und heissem Wasser, in verdünnter Salzlösung, in Alkohol, in Aether unlöslich, lösen sich schwer in verdünnten Alkalien, auch in Ammoniak, in verdünnter Salzsäure oder Essig-

---

[1]) Ebendas. **21.** 319 u. 481. (1896.) **22.** 1. (1897.) Roos, **25.** 1. (1898.)
[2]) Arch. f. d. ges. Physiol. **22.** 431. (1880.)
[3]) Hasebroek, Zeitschr. f. physiol. Chem. **11.** 348. (1887.)

säure. Sie geben die in § 280 B beschriebenen Farbenreactionen. Durch starke Mineralsäuren werden sie in Acidalbumine und durch concentrirte Alkalilaugen in Alkalialbuminate übergeführt.

298. **Acidalbumine (Syntonine[1])** entstehen 1. durch Einwirkung von Säuren auf Eiweissstoffe. Die Schnelligkeit, mit der die Umwandlung erfolgt, ist bei den verschiedenen Eiweissstoffen verschieden (bei Globulinen leichter wie bei Albuminen, bei Eieralbumin leichter als bei Serumalbumin) und abhängig von Concentration der Säuren und Temperatur. Coagulirte Eiweissstoffe werden erst in der Wärme oder durch starke Mineralsäuren in Acidalbumin umgewandelt. 2. Durch Einwirkung von Pepsin-Salzsäure auf native und coagulirte Eiweissstoffe, Fibrin. 3. Bei der Fällung der Eiweissstoffe durch Salze schwerer Metalle, z. B. Eisenchlorid, Sublimat, Platinchlorid. Darstellung.

Sie sind in Wasser und neutralen Salzlösungen unlöslich, leicht löslich in verdünnten Säuren und verdünnten Alkalien, auch kohlensauren Alkalien und werden durch Neutralisation unverändert wieder ausgeschieden z. Th. gallertartig, wie das Syntonin aus Myosin. In einer alkalischen Lösung entsteht durch Zusatz einer Säure eine Fällung bei noch alkalischer Reaction (Unterschied von Albuminaten). Beim Eintragen von Neutralsalzen in ihre saure Lösung fallen sie aus. Sie sind keine Säuren wie die Albuminate. Sie geben alle die in § 280 B beschriebenen Farbenreactionen. Durch Einwirkung von Alkalien in mässiger Wärme auch von Alkalicarbonaten werden sie in Albuminate übergeführt. Eigenschaften.

Die aus den einzelnen Eiweissstoffen hervorgegangenen Acidalbumine zeigen Verschiedenheit in Zusammensetzung, specifischer Drehung u. s. w.

299. Hemiproteïn (Antialbumid). Durch Kochen mit verdünnten Säuren[2]), Pepsinverdauung, auch schon durch Säurewirkung bei niederer Temperatur[3]) (die Bedingungen, unter denen die Bildung erfolgt, sind bei den einzelnen Eiweissstoffen sehr verschieden) entsteht aus Eiweiss neben in Säure löslichem Syntonin, Propeptonen, u. s. w. ein Körper, der in Säure unlöslich, in Alkalien löslich, gegen Säure und Pepsin-Salzsäure sehr widerstandsfähig ist und erst beim Erhitzen mit stärkeren Säuren unter gleichzeitigem Zerfall in entferntere Spaltungsproducte gelöst wird. Dieser Körper wurde von Schützenberger Hemiproteïn, von Kühne[4]) Antialbumid genannt. Hemiproteïn.

Die Acidalbumine und Hemiproteïne, ihre Beziehungen zu einander und zu den Eiweissstoffen, aus denen sie hervorgehen, bedürfen noch sehr der Untersuchung.

300. **Albuminate (Alkalialbuminate, Albuminsäuren)** entstehen durch Einwirkung von Alkalien auf Eiweissstoffe schon bei gewöhnlicher Tempe- Darstellung.

---

[1]) Panum, Arch. f. pathol. Anat. **4**. 419. (1851.); Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. analyt. Chem. **3**. 424; Soyka, Arch. f. d. ges. Physiol. **12**. 347. (1876.); Mörner, Ebendas. **17**. 468. (1878.); Rollet, Wien. Akad. Sitzber. **84**. Abth. III. 332. (1881.); Johansson, Zeitschr. f. physiol. Chem. **9**. 310. (1885.); Goldschmidt, Dissert. Strassburg. (1898.)

[2]) Schützenberger, Bull. de la soc. chim. de Paris. **23**. 161. (1875.)

[3]) Goldschmidt, a. a. O. [4]) Zeitschr. f. Biolog. **19**. 159. (1883.)

ratur und geringem Alkalescenzgrad, schneller in der Wärme und bei stärkerer Concentration[1]). Beim Zusammenbringen von starken Alkalien und conc. Eiweisslösungen scheidet sich das Albuminat als Gallerte ab (Lieberkühn). Die Umwandlung coagulirter Eiweissstoffe findet erst in der Wärme oder durch starke Alkalien statt.

Eigenschaften. Die Bildung geht einher mit einer Abspaltung von Ammoniak event. auch von Schwefelwasserstoff; sie können nicht in Acidalbumine umgewandelt werden. Sie sind in Wasser und Alkohol etwas löslich, in neutralen Salzlösungen unlöslich, leicht löslich in verdünnten Säuren und Alkalien, auch kohlensauren Alkalien, durch Neutralisation wieder abscheidbar u. z. erfolgt die Fällung einer alkalischen Lösung auf Zusatz einer Säure bei saurer Reaction (Unterschied von den Acidalbuminen). Aus den sauren Lösungen werden sie durch Eintragen von Neutralsalz gefällt, aus den alkalischen nur schwierig oder gar nicht. Die Albuminate sind Säuren, ihre wässerigen Lösungen reagiren sauer; in Wasser zertheilt treiben sie aus Barium-, Strontium-, Calciumcarbonaten Kohlensäure aus und lösen sich in Verbindung mit diesen Metallen (Unterschied von Acidalbuminen). Aus ihren möglichst neutralen Lösungen werden sie durch Kupfersalze und andere Schwermetallsalze gefällt. Sie geben die Farbenreactionen, die Schwefelbleiprobe kann negativ ausfallen (§ 280 B). Sie drehen die Ebene des polarisirten Lichtes stärker nach links als die Eiweissstoffe, aus denen sie entstanden. Serumalbumin zeigt bei Behandlung mit starker Kalilauge eine Steigerung von $[\alpha]_D$ auf $-86,0^\circ$, Eieralbumin auf $-47,0^\circ$.

Die einzelnen Albuminate zeigen Verschiedenheiten unter einander, je nach der Herkunft und der Intensität der Alkaliwirkung.

Körper, die sich den Reactionen nach wie Alkalialbuminate verhalten, entstehen auch durch Einwirkung von organischen Basen, Cholin, Piperidin, ferner von Harnstoff und anderen Säureamiden (die hier wie typische Basen wirken) in conc. Lösung auf Eiweisslösungen. Diese Stoffe vermögen auch coagulirte Eiweissstoffe zu lösen[2]).

Propeptone (Albumosen) und Peptone.

Bildungsweisen. 301. Durch Fermente (Pepsin, Trypsin), Einwirkung von Wasser bei erhöhter Temperatur, von verdünnten Mineralsäuren, Alkalien, von oxydirenden Mitteln, von Mikroorganismen werden die nativen Eiweissstoffe und ihre Umwandlungsproducte unter Wasseraufnahme gespalten unter Bildung von Körpern, die man Propeptone (Albumosen) und Peptone genannt hat.

Allgemeine Eigenschaften. Sie sind im Allgemeinen ärmer an Kohlenstoff und Stickstoff und reicher an Sauerstoff, als die ursprünglichen Eiweisskörper. Die Propeptone haben ein kleineres Molekül als die Eiweissstoffe, aus denen sie hervorgehen, und die Peptone ein kleineres als die Propeptone. Die Propeptone diffundiren

[1]) Lieberkühn, Poggendorff's Ann. **86**. 118. (1852); Hoppe-Seyler, a.a.O.; Soyka, a. a. O.; Mörner, a. a. O. Rollet, a. a. O.; Schmiedeberg, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **39**. 1. (1897.); Maas, Zeitschr. f. physiol. Chem. **30**. 61. (1900.)

[2]) Vergl. darüber Spiro, Zeitschr. f. physiol. Chem. **30**. 182. (1900.)

nur wenig, die Peptone ganz erheblich. Die Propeptone und Peptone sind linksdrehend, krystallisiren nicht, sind in Wasser fast sämmtlich löslich und werden beim Erhitzen nicht coagulirt. Durch Alkohol werden sie zum Theil aus ihren Lösungen gefällt, zum Theil nicht, und ebenfalls nicht coagulirt. Den Fällungsmitteln der Eiweisskörper sind sie im Allgemeinen weniger zugänglich als die Eiweissstoffe, die Peptone noch weniger als die Propeptone. Alle geben sie die Biuretprobe, wenn auch zum Theil mit mehr rothvioletter bis rother Farbe.

Wie Danilewski fand, entsteht in Lösungen durch Verdauung entstandener Propeptone und Peptone beim Digeriren mit künstlichem Magensaft oder Labferment bei Brutwärme ein flockiger Niederschlag oder auch eine feste Gallerte. Dieser Niederschlag ist in Wasser unlöslich, nach Zusatz geringer Mengen Alkali löslich und aus diesen Lösungen durch Essigsäure wieder fällbar. Sawjalow[1]) nennt ihn Plasteïn und rechnet ihn den Globulinen zu. Trypsin und lange Pepsinverdauung spalten Propeptone und Peptone weiter (§ 279), desgleichen Erepsin (siehe dieses), welches genuine Eiweissstoffe nicht angreift. Einwirkung von Fermenten.

302. **Trennung der Propeptone und Peptone.** Dieselbe wurde vor Allem von Kühne und seinen Schülern Chittenden und Neumeister[2]) in Angriff genommen, von Hofmeister und seinen Schülern weiter geführt.

Kühne benutzte zur Trennung von Propeptonen und Peptonen Ammonsulfat: Bei der Sättigung der Lösung mit Ammonsulfat fallen die Propeptone aus, die Peptone nicht*). Unter den Propeptonen unterschied er primäre Albumosen (Protalbumose, Heteroalbumose) und Deuteroalbumosen. Prot- und Heteroalbumose fasst er deshalb unter dem Namen primäre Albumosen zusammen, weil sie seiner Meinung nach die ersten Spaltungsproducte darstellen, aus denen die Deuteroalbumosen und weiter die Peptone hervorgehen. Zur Trennung von primären und Deuteroalbumosen dient Kochsalz: Der beim Sättigen der neutralen Lösung mit Kochsalz entstehende Niederschlag besteht aus primären Albumosen, im Filtrate ruft mit Kochsalz gesättigte Salzsäure einen weiteren Niederschlag hervor (Rest der primären Albumosen und Deuteroalbumosen); das Filtrat dieses Niederschlags enthält nur Deuteroalbumosen. Die Trennung der primären Albumosen geschieht mit Hülfe der Diffusion: Die Heteroalbumose scheidet sich dabei als in reinem Wasser sehr wenig löslich ab, die Protalbumose bleibt in Lösung. Trennung nach Kühne.

303. Hofmeister und seine Schüler haben ein anderes Trennungs- Trennung nach Hofmeister.

*) Zur völligen Abscheidung der Propeptone ist es nothwendig das Aussalzen sowohl bei saurer als bei alkalischer Reaction und in der Hitze vorzunehmen (§ 312).

[1]) Ref. Maly's Jahresber. 1899. S. 58.

[2]) Kühne u. Chittenden, Zeitschr. f. Biol. **20**. 11. (1884.), Kühne, Verh. d. naturh. med. Vereins zu Heidelberg. N. F. **3**. 286. (1885.), Neumeister, Zeitschr. f. Biol. **23**. 381. (1887.) **24**. 267. (1888.) **26**. 324. (1889.), Kühne, Ebendas. **29**. 1. (1892.)

verfahren angegeben, das im Wesentlichen auf fractionirter Fällung mit Ammonsulfat beruht und in § 304 beschrieben ist. Es gestattet eine weitere Zerlegung u. z. in 6 Fractionen, von denen die erste den primären Albumosen, die 2., 3. und 4. den Deuteroalbumosen und die 5. und 6. den Peptonen Kühne's entspricht. Von den einzelnen Fractionen, die z. Th. jedenfalls aus Gemengen bestehen, ist bis jetzt nur die erste genauer untersucht worden, doch hat sich bereits mit Bestimmtheit ergeben, dass auch eine oder mehrere der Deuteroalbumosen direct aus dem Eiweiss abgespalten werden, so dass die Bezeichnung „primäre Albumosen" ausschliesslich für die Hetero- und Protalbumose nicht mehr zutrifft. Es erscheint aber zweckmässig einstweilen, bis die genetischen Beziehungen besser erforscht sind, die alten Bezeichnungen beizubehalten. Statt des Ammonsulfats kann man zur Fractionirung auch das Zinksulfat, das zur Fällung der Albumosen zuerst von Bömer[1]) angewandt wurde, benutzen (Zunz[2]); es scheint sogar noch zweckmässiger zu sein.

Nach den Untersuchungen von Cerny[3]) scheint eine glatte Fractionirung auch auf dem Wege der fractionirten Salzfällung nicht möglich, denn auch nach wiederholter Reinigung erwiesen sich ihm einzelne Fractionen gerade in Bezug auf ihr Verhalten gegen Fällung mit Ammonsulfat als Gemenge.

304. Trennung eines Propepton-Peptongemisches nach Pick[4]). Die Flüssigkeit z. B. eine 5 proc. Lösung von Pepton-Witte*) oder eine von coagulablen Eiweissstoffen und vom Neutralisationsniederschlage befreite peptische Verdauungsflüssigkeit wird mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung gefällt, die abgeschiedene Masse mit halbgesättigter Ammonsulfatlösung gewaschen, in heissem Wasser gelöst und in derselben Weise wieder gefällt. Lösung und Fällung wiederholt: Fraction I. (Primäre Albumosen.)

Das Filtrat wird durch Zusatz des halben Volumens gesättigter Ammonsulfatlösung auf $^2/_3$ Sättigung gebracht, die sich absetzende Masse mit einer $^2/_3$ gesättigten Ammonsulfatlösung gewaschen und durch Wiederholung von Lösung und Fällung gereinigt: Fraction II. (Deuteroalbumose A.)

Das Filtrat wird durch Eintragen von feingepulvertem Ammonsulfat gesättigt, die Abscheidung mit gesättigter Ammonsulfatlösung gewaschen, durch wiederholtes Lösen und Fällen gereinigt: Fraction III. (Deuteroalbumose B.)

Das Filtrat wird mit $^1/_{10}$ Vol. ammonsulfatgesättigter $^n/_{10}$ Schwefelsäure versetzt, die Abscheidung in entsprechender Weise behandelt: Fraction IV. (Deuteroalbumose C.)

Das Filtrat wird mit einer ammonsulfatgesättigten Jodjodkalilösung (2 Th. Jodkali, 1 Th. Jod) so lange versetzt, bis eine Probe der Flüssigkeit keine Fällung mehr giebt. Der in 96 proc. Alkohol gebrachte Niederschlag löst sich zum Theil. Der unlösliche Theil wird in wenig warmem Wasser gelöst, die schwachsaure jodjodkalium-

---

*) Ein käufliches, durch Pepsinverdauung hergestelltes Präparat, das hauptsächlich aus Propeptonen besteht.

1) Zeitschr. f. analyt. Chem. **34.** 562. (1895.)

2) Zeitschr. f. physiol. Chem. **27.** 219. (1899.)

3) Arch. f. d. ges. Physiol. **87.** 614. (1901.)

4) Zeitschr. f. physiol. Chem. **24.** 267. (1898.)

haltige Flüssigkeit mit Ammonsulfat gesättigt und mit salzgesättigter Jodjodkalilösung gefällt. Der in warmem Wasser gelöste Niederschlag fällt auf Zusatz von überschüssigem 96 proc. Alkohol wieder aus und wird nach dem Auswaschen mit Alkohol durch Schütteln mit Aether von den letzten Jodresten befreit. Fraction V. (Pepton A.)

Der in Alkohol lösliche Theil wird nach dem Verdunsten des Alkohols in Wasser gelöst, durch Schütteln mit Aether und Aether-Chloroform (event. durch Kochen seiner wässerigen neutralen Lösung mit Bleioxyd) jodfrei gemacht und zur Trockne eingedampft. Es bleibt ein fester gelbgefärbter Körper zurück: Fraction VI. (Pepton B.)

305. **Primäre Albumosen.** Kühne und Chittenden trennten, wie § 302 angegeben, die beiden primären Albumosen mit Hülfe des Dialysirverfahrens, Pick[1]) benutzt zur Trennung Alkohol. Die nach Pick dargestellten Prot- und Heteroalbumosen unterscheiden sich in Eigenschaften und Zusammensetzung*) wesentlich von den Kühne'schen. Da sie aber vermuthlich reinere Körper darstellen, sollen nur sie besprochen werden.

Darstellung nach Pick.

Darstellung aus Pepton-Witte nach Pick[1]). Eine möglichst concentrirte (ca. 40proc.) Lösung wird noch warm mit dem doppelten Volumen 95proc. Alkohol versetzt und über Nacht stehen gelassen. Der teigige Niederschlag enthält die Heteroalbumose, das alkoholische Filtrat die Protalbumose. Der gut ausgepresste Niederschlag wird in 10 proc. wässeriger Lösung mit verd. Schwefelsäure neutralisirt und mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung gefällt. Der Niederschlag wird abgepresst und aus ca. 10 proc. neutraler Lösung abermals wie vorher gefällt. Nachdem Lösung und Fällung nochmals wiederholt sind, wird die 10pCt. wässerige Lösung des Niederschlags mit dem halben Volumen 95 proc. Alkohols versetzt. Der Niederschlag wird abgepresst, in heissem Wasser gelöst, filtrirt und wieder in derselben Weise gefällt, Lösung und Fällung noch zweimal wiederholt. Der zuletzt erhaltene Niederschlag wird abfiltrirt, mit 32 proc., dann mit 95 proc. Alkohol, schliesslich mit Aether gewaschen. Der schneeweisse Körper (Heteroalbumose) bräunt sich beim Trocknen und bildet leimartige Tafeln. Aus dem alkoholischen Filtrat wird der Alkohol im Vacuum abdestillirt, der Rückstand getrocknet, pulverisirt, in Wasser gelöst und die etwa 10proc. stark alkalisch reagirende Lösung nach dem Neutralisiren mit verdünnter Schwefelsäure mit dem gleichen Vol. gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt. Der Niederschlag wird in Wasser gelöst und die wässerige Lösung vorsichtig mit verdünnter Essigsäure geprüft. Entsteht ein Niederschlag, so wird vorsichtig mit Essigsäure ausgefällt. Man filtrirt, entfernt aus dem Filtrate Reste von Ammonsulfat durch Bariumacetat, das Barium durch Ammoncarbonat, dampft zum Syrup ein und nimmt den Rückstand mit 60 proc. Alkohol auf. Aus der möglichst concentrirten Lösung wird die Protalbumose durch einen grossen Ueberschuss 95 proc. Alkohols ausgefällt. Lösung und Fällung wird wiederholt, der Niederschlag mit Alkohol und Aether gewaschen. Die Protalbumose bildet eine schneeweisse Masse, welche an der Luft Feuchtigkeit anzieht und im Vacuum einen kreidigen, leicht pulverisirbaren Körper liefert.

Protalbumose. Eigenschaften.

306. Protalbumose aus Pepton-Witte ist in kaltem Wasser löslich; concentrirtere Lösungen trüben sich und scheiden beim längeren Stehen einen schleimigen Bodensatz ab, der sich aber immer wieder in wässerige Lösung bringen lässt. In wässerigem Alkohol ist ihre Löslichkeit viel grösser, selbst in 80proc. Alkohol bleibt sie zum grössten Theil gelöst.

---

*) Vergl. die Arbeiten von Haslam, Zeitschr. f. physiol. Chem. **32**. 54. (1901.) Hart, Ebendas. **33**. 347. (1901.)

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **28**. 219. (1899.)

Reactionen. Eine 4proc. neutrale wässerige Lösung verhält sich folgendermaassen: Weder Essigsäure noch verdünnte Salpetersäure bewirken eine Trübung, stärkere Salpetersäure erzeugt geringe Trübung, die sich bei geringstem Ueberschuss löst und auch beim Erwärmen, um beim Erkalten wieder zu kommen; gleiches Volumen gesättigter Kochsalzlösung + Essigsäure rufen Opalescenz hervor, die beim Erwärmen verschwindet und beim Erkalten wiederkehrt. Sättigung mit Kochsalz Trübung. Kupfersulfat und Kupferacetatlösung Trübungen, die in der Wärme verschwinden, beim Abkühlen wiederkehren. Ferrocyankalium + Essigsäure Trübung; Pikrinsäure, Gerbsäure, Kaliumquecksilberjodid + Salzsäure in der Hitze lösliche, beim Erkalten ausfallende Niederschläge. Sublimat, Phosphorwolframsäure Niederschläge; Bleiacetat nur schwache Opalescenz; Almén'sche Lösung (Anh.) schwache Trübung, die im Ueberschuss sich nicht völlig löst. Von den § 280 B beschriebenen Farbenreactionen fällt die Biuretreaction violett, die Millon'sche und Schwefelbleiprobe ebenfalls positiv, die Molisch'sche Probe negativ aus. Unter den Spaltungsproducten wurden Tyrosin, Indol, Skatol, wenig Leucin und kein Glykocoll gefunden. Weiteres siehe bei Pick.

Heteroalbumose. Eigenschaften. 307. Heteroalbumose aus Pepton-Witte quillt in Wasser, ist aber nicht völlig unlöslich darin, in der Hitze löst sie sich und scheidet sich beim Erkalten zum grossen Theil wieder ab; in verdünnten Salzlösungen löst sie sich. Alkohol fällt selbst stark verdünnte Lösungen. Sie hat die Neigung, z. B. während der Salzfällung theilweise in die in Wasser und verdünnter Salzlösung unlösliche Dysalbumose überzugehen. Die Dysalbumose löst sich in verdünnter Sodalösung und geht dabei theilweise wieder in Heteroalbumose über.

Reactionen. Gegen Reagentien verhält sich ihre (trübe) Lösung folgendermaassen: Essigsäure bewirkt Klärung, Salpetersäure Niederschlag, der sich im Ueberschuss nicht löst, aber beim Erwärmen, um beim Erkalten wiederzukehren. Gleiches Vol. gesättigter Kochsalzlösung + Essigsäure erzeugt Niederschlag, der sich in der Hitze löst und beim Erkalten wieder erscheint; Sättigung mit Kochsalz dichte Trübung; Kupfersulfat- und Kupferacetatlösung Fällungen, die in der Wärme sich lösen, beim Erkalten wieder erscheinen; Ferrocyankalium + Essigsäure Trübung. Gegen Pikrinsäure, Gerbsäure, Kaliumquecksilberjodid + Salzsäure, Sublimat, Phosphorwolframsäure verhält sie sich ebenso wie die Protalbumose. Mit Bleiacetat im Ueberschuss entsteht löslicher, mit Almén'scher Lösung im Ueberschuss unlöslicher Niederschlag. Von den Farbenreactionen (§ 280 B) fällt die Biuretreaction violett, die Millon'sche Reaction schwach, die Schwefelbleiprobe positiv, die Molisch-sche Reaction negativ aus. Unter den Spaltungsproducten wurden reichlich Leucin und Glykocoll gefunden. Weiteres siehe bei Pick.

308. **Deuteroalbumosen.** Man erhält sie durch Fällung ihrer bei neutraler Reaction eingedampften, von Kochsalz (§ 302) durch Dialyse, von

Ammonsulfat (§ 304) durch Kochen mit Bariumcarbonat befreiten Lösungen mit Alkohol.

Sie sind in Wasser leicht löslich. Die den einzelnen Fractionen von Pick entsprechenden als Deuteroalbumosen A, B und C bezeichneten Körper (§ 304) stellen vermuthlich auch noch Gemenge dar, deren Untersuchung erst begonnen ist.

Die folgenden Reactionen gelten für keine einzelne Fraction, sondern für die Deuteroalbumosen im Allgemeinen. Sättigung der neutralen Albumosen mit Kochsalz bewirkt keine Abscheidung, erst auf Zusatz von Essigsäure erfolgt theilweise Fällung, Salpetersäure ruft in der salzfreien Lösung keine Trübung hervor; Kupfersulfat- und Kupferacetatlösungen bewirken keine Trübung; Ferrocyankalium + Essigsäure Trübungen, die zuweilen erst nach längerer Zeit und in geringem Grade auftreten. Pikrinsäure, Gerbsäure, Kaliumquecksilberjodid + Salzsäure, Phosphorwolframsäure + Salzsäure rufen Niederschläge hervor. Almén'sches Reagens bewirkt im Ueberschuss unlöslichen Niederschlag. Violette bis röthliche Biuretreaction; die übrigen Farbenreactionen (§ 280 B) positiv. Reactionen.

Von Kutscher[1]) und von Folin[2]) wurden aus Pepton Witte Deuteroalbumosen dargestellt, welche mit Ferrocyankalium + Essigsäure keine Spur einer Trübung geben und im Ueberschuss des Almén'schen Reagens löslich sind. Ueber die Vertheilung des Stickstoffs in der nach Folin dargestellten Albumose siehe bei Haslam (a. a. O.). Auch die Deuteroalbumosen B und C aus Pepton-Witte geben mit Ferrocyankalium + Essigsäure keine Trübung. Der Folin'sche Körper und die Deuteroalbumose C von Pick geben die Schwefelbleiprobe (§ 280, 12) nicht.

309. **Akroalbumose** wurde von Kühne[3]) in Pepton-Witte aufgefunden, ist in Wasser schwer löslich oder unlöslich, in Salzlösungen z. B. 15—20 proc. Salmiaklösung, in verdünnter Sodalösung löslich und dadurch charakterisirt, dass ihre Lösungen durch Essigsäure, auch durch Kohlensäure gefällt werden. Sie wird durch Kupferacetat gefällt und ebenso durch Bleiacetat.

310. **Atmidalbumin** und **Atmidalbumose** nennt Neumeister[4]) Stoffe, die beim einstündigen Erhitzen von Fibrin und anderen Eiweissstoffen mit Wasser auf 160° unter Schwefelwasserstoffentwicklung entstehen und von denen das Atmidalbumin zwischen den Eiweissstoffen und Albumosen steht, die Atmidalbumose eine Albumose darstellt. Gegen Verdauungsfermente sind sie sehr widerstandsfähig, durch Kochen mit Schwefelsäure entstehen Deuteroalbumosen und Peptone.

311. Als **Alkalialbumose** beschreibt Maas[5]) einen Körper, den er durch mehr-

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **23**. 115. (1897.) [2]) Ebendas. **25**. 152. (1898.)

[3]) Zeitschr. f. Biolog. **30**. 221. (1893.)
Folin, Zeitschr. f. physiol. Chem. **25**. 152. (1898.)

[4]) Zeitschr. f. Biol. **26**. 57. (1889), **36**. 420. (1898.) Salkowski, Ebendas. **34**. 190. (1896) **37**. 404. (1899) Chittenden u. Maas, Journ. of Physiol. **15**. 501 (1894.)

[5]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **30**. 61. (1900.)

stündige Einwirkung von Normalkalilauge auf Hühnereiweiss im kochenden Wasserbade erhielt und der in seinen Eigenschaften von den Verdauungsproducten weit abweicht.

Darstellung. 312. **Peptone (Amphopeptone).** Um aus einem Propepton-Peptongemisch, wie es bei der peptischen Verdauung erhalten wird, die Peptone nach Kühne darzustellen, entfernt man, wie oben (§ 302) erwähnt, die Propeptone durch Sättigung der Lösung mit Ammonsulfat; zu einer völligen Entfernung ist es aber nöthig[1]), nacheinander bei neutraler, bei ammoniakalischer und bei essigsaurer Reaction in der Hitze zu sättigen und nach jeder Sättigung erkalten zu lassen und von den Abscheidungen abzufiltriren. Die saure Flüssigkeit wird dann unter Umrühren eingedampft, von den ausgeschiedenen Krystallen abgesaugt, und durch Versetzen mit Alkohol und Einsetzen in eine Kältemischung weiter von Salzen befreit. Schliesslich entfernt man den Alkohol durch Kochen, das Sulfat durch Erhitzen mit Bariumcarbonat, das in Lösung gegangene Barium durch Schwefelsäure, dampft ein und fällt mit Alkohol.

Diesem Pepton entsprechen die Fractionen V und VI von Pick: das in Alkohol unlösliche Pepton A und das in Alkohol lösliche Pepton B, über deren Darstellung siehe oben (§ 304).

Eigenschaften. Die Peptone sind in Wasser sehr leicht löslich, das Pepton B auch in Alkohol. Beim Sättigen der wässerigen Lösungen mit Kochsalz oder Ammonsulfat tritt keine Abscheidung ein, auch nicht auf Zusatz einer Säure.

Reactionen. Die wässerigen Lösungen werden nicht gefällt durch Salpetersäure, auch nicht bei Gegenwart von Salz, auch nicht durch Kupfersulfatlösung, Essigsäure + Ferrocyankalium, Pikrinsäure, Kaliumquecksilberjodid + Salzsäure. Sie werden gefällt durch Gerbsäure, Phosphorwolframsäure + Salzsäure. Almén'sche Lösung ruft Niederschlag hervor, der im Ueberschuss löslich ist. Biuretprobe (§ 280, 8) mit rothvioletter Farbe. Schwefelbleiprobe (§ 280, 12) negativ oder ganz schwach.

Weitere Versuche zur Trennung des Peptons sind von Fränkel und Langstein[2]) u. a. unternommen worden.

Neuerdings hat Mühle[3]) mit Hülfe eines im Original nachzusehenden Verfahrens aus Pepton, welches aus Fibrin und Pepton-Witte durch peptische Verdauung entstanden war, zwei Körper isolirt, die er als einbasische Säuren von der Zusammensetzung $C_{21}H_{34}N_6O_9$ und $C_{21}H_{36}N_6O_{10}$ beschreibt. Sie sind in 96proc. Alkohol etwas löslich, löslich in gesättigten Salzlösungen, geben starke Biuretreaction, ebenso die andern Farbenreactionen (§ 280 B) und werden durch Gerbsäure, Pikrinsäure und Sublimat gefällt.

313. **Antipeptone.** Mit diesem Namen bezeichnet Kühne[4]) das bei

---

[1]) Kühne, Zeitschr. f. Biol. **29**. 1. (1892.)

[2]) Wien. med. Blätter. 1896. No. 45—46, Sitzber. d. k. Akad. d. Wiss. in Wien math. naturw. Klasse 110, Abth. IIb. Febr. 1901.

[3]) Diss. Leipzig 1901. Siegfried, Ber. d. d. chem. Ges. **33**. 3568. (1900.)

[4]) Kühne u. Chittenden, Zeitschr. f. Biol. **22**. 423. (1886.)

der tryptischen Verdauung neben den Aminosäuren auftretende Pepton. Es soll nach Kühne der „Antigruppe" des Eiweiss entstammen und ein Endproduct der tryptischen Verdauung darstellen, während die „Hemigruppe" alsbald eine völlige Spaltung in kleinere Moleküle (Aminosäuren u. s. w.) erfährt. Indessen ist durch Kutscher[1]) nachgewiesen, dass ein energischer Trypsinwirkung widerstehendes Pepton nicht existirt, und dass das nach Kühne's Verfahren dargestellte Antipepton kein einheitlicher Körper sein kann. Siegfried[2]) hat aus dem Gemenge der tryptischen Verdauungsproducte von Fibrin und Pepton-Witte zwei Körper isolirt, die er Antipepton α und β nennt und als einbasische Säuren von der Zusammensetzung $C_{10}H_{17}N_3O_5$ und $C_{11}H_{19}N_3O_5$ beschreibt. Sie lösen sich leicht in Wasser mit stark saurer Reaction, schwer in Alkohol. Sie werden aus verdünnter Lösung nicht gefällt durch Phosphorwolframsäure, Bleiessig, Metaphosphorsäure, Ferrocyankalium + Essigsäure. Pikrinsäure und Sublimat geben geringe Fällungen. Von den § 280 B beschriebenen Farbenreactionen fallen die Millon'sche und die Molisch'sche Reaction negativ, die Biuretreaction stark positiv aus. Sie drehen links. Bei der hydrolytischen Spaltung entstehen mehrere Basen, unter denen Lysin nachgewiesen wurde, aus dem β-Antipepton auch Glutaminsäure und aus dem α-Antipepton wahrscheinlich Asparaginsäure. Ueber die Darstellung der Antipeptone siehe das Original. Sie besitzen, auch nach Siegfried, wohl eine grosse, aber keine unbedingte Widerstandsfähigkeit gegen Trypsin. Ueber ihre Beziehungen zu den bei der Pepsinverdauung auftretenden Peptonen lässt sich noch nichts aussagen. Für nahe verwandt oder identisch mit diesen Körpern hält Siegfried[3]) die

α- u. β-Antipepton.

314. **Fleischsäure**, welche er als Spaltungsproduct der von ihm aus Fleischextract und aus von Eiweiss befreiten Muskelauszügen als Eisenverbindung isolirten Phosphorfleischsäure (§ 390) erhielt. Er beschreibt sie als einbasische Säure von der Formel $C_{10}H_{17}N_3O_5$ oder $C_{10}H_{15}N_3O_5$. Weitere Untersuchungen sind nöthig[4]).

---

315. **Eiweisskörper von Bence Jones.** In sehr seltenen Fällen (es handelte sich stets um Kranke mit Knochenmarksveränderungen) tritt im Harne ein zuerst von Bence Jones*) beobachteter Eiweisskörper auf, der dem Harne die Eigenschaft verleiht, Vorkommen.

---

*) Philosoph. Transact. I. 55. (1848.). Die letzten Fälle wurden von Magnus-Levy, Zeitschr. f. physiol. Chem. **30**. 200. (1900.) und von Grutterink und de Graaff, Ebendas. **34**. 393. (1902.) beschrieben. Bei Magnus-Levy Literatur.

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **25**. 195. (1898), **28**. 88. (1899.) Ber. d. d. chem. Ges. **33**. 3457. (1900) u. **34**. 504. (1901.)

[2]) Ebendas. **33**. 2851 u. 3564. (1900.) Zeitschr. f. physiol. Chem. **35**. 164. (1902.)

[3]) Arch. f. Anat. u. Physiol. Physiol. Abthlg. 1894. S. 401. Zeitschr. f. physiol. Chem. **21**. 360. (1896.) Balke, Ebendas. **22**. 248. (1897.)

[4]) Vergl. Mays, Zeitschr. f. Biol. **34**. 268. (1896.) Folin, Zeitschr. f. physiol. Chem. **25**. 152. (1898.) Kutscher, Ebendas. **26**. 110. (1899.)

beim Erwärmen auf 40—60° oder höher eine Fällung zu geben, die bei höherer Temperatur eine völlige oder mehr weniger völlige Lösung erfährt, beim Erkalten wieder erscheint. Die Angaben über die in den einzelnen Fällen isolirten Stoffe weichen nicht unerheblich von einander ab. Die Eigenschaften stimmen weder mit denen der Albumosen, zu denen sie im Allgemeinen gerechnet werden, noch mit denen der genuinen Eiweissstoffe überein.

Isolirung und Eigenschaften. Die Isolirung aus dem Harne erfolgt durch Versetzen mit dem doppelten Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung oder mit dem doppelten Volumen Alkohol. Krystallisirt wurde er von Grutterink und de Graaff erhalten, einmal gelegentlich auch von Magnus-Levy. Der durch Alkohol ausgefällte Körper löst sich, wenigstens wenn die Einwirkung des Alkohols nur kurz dauerte, mehr oder weniger leicht wieder in Wasser. Die wässerige Lösung des Ammonsulfatniederschlags lässt sich durch Dialyse salzfrei machen, ohne dass eine Ausscheidung erfolgt. Beim Erwärmen auf 50—60° beginnt die Abscheidung (in manchen Fällen erfolgte sie in einer salzfreien Lösung nicht), bei höherer Temperatur findet wieder Lösung statt. Magnus-Levy konnte in seinem Falle durch Zusatz von Salmiak die Wiederlösung bei 100° begünstigen, durch Zusatz von Harnstoff das Auftreten eines Niederschlags beim Erwärmen ganz verhindern. Das in der Wärme entstandene Coagulum löste sich in manchen Fällen in Wasser, in andern nicht, aber in Sodalösung. Salpetersäure giebt einen Niederschlag, der in manchen Fällen im Ueberschuss löslich war, in andern nicht, beim Erwärmen sich in den einzelnen Fällen mehr oder weniger vollständig löste. Gerbsäure, Pikrinsäure, Metallsalze, Essigsäure und Ferrocyankalium geben Fällungen; alle Farbenreactionen der Eiweissstoffe (§ 280 B) sind positiv. Bei Zusatz von Lauge oder Säure und darauffolgender Neutralisation entstand in den meisten Fällen Niederschlag (Neutralisationspräcipitat). In den meisten Fällen war der Körper der Dialyse unzugänglich. Bei der Verdauung mit Pepsin-Salzsäure entstehen Deuteroalbumosen und Pepton, Magnus-Levy erhielt auch Protalbumose.

Oxydirte, nitro- und halogensubstituirte Eiweissstoffe.

Vorkommen im Harn. 316. **Oxyproteïnsäure (Uroprotsäure).** Eine hochmolekulare, stickstoff- und schwefelhaltige, sauerstoffreiche Säure, welche Bondzyński und Gottlieb[1]) und gleichzeitig Cloëtta[2]) aus menschlichem und Hundeharn (aus letzterem besonders reichlich nach Phosphorvergiftung) als Barytsalz isolirten. Ueber die Darstellung siehe die Originalarbeiten. Aus der 24 stündigen Harnmenge sind mehrere Gramm Barytsalz erhalten worden.

Zusammensetzung und Eigenschaften. Die Zusammensetzung ist noch nicht sichergestellt. Bondzyński und Gottlieb fanden im Durchschnitt für das Barytsalz C 27,5; H 3,9; N 10,64; S 1,7; Ba 29,76pCt. Die Säure ist in Wasser leicht löslich, das neutrale Barytsalz in Wasser löslich, in Alkohol unlöslich, das basische Barytsalz in Wasser unlöslich. Die Lösungen werden durch Phosphorwolframsäure und Sublimat nicht gefällt, aber durch Mercurinitrat. Die Xanthoproteïn-, Biuret- und Schwefelbleiprobe fallen negativ aus, die Millon'sche Probe ganz schwach (§ 280 B).

Vermuthlich liegt in dieser Säure ein Product unvollständiger Oxydation von Eiweisskörpern vor.

Darstellung. 317. **Oxyprotsulfonsäure.** Aus Eiereiweiss wurde zuerst von Brücke, dann von Maly[3]) durch mehrtägige Einwirkung von Kaliumpermanganat (auf 300 g in Wasser gelöstes Eiweiss 170 g Permanganat) eine Säure, Oxyprotsulfonsäure, erhalten, die aus dem

---

1) Centralbl. f. d. med. Wiss. 1897. S. 577.

2) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **40**. 29. (1898.).
Pregl, Arch. f. d. ges. Physiol. **75**. 103. (1899.)

3) Monatsh. f. Chem. **6**. 107. (1885.) **9**. 255. (1888.)

Filtrat des Manganschlammes mit Säure gefällt in Wasser fast unlöslich ist, amorph erscheint, in conc. Mineralsäuren leicht löslich, durch Wasser wieder ausfällbar ist, sich in Alkalien leicht löst und ebenso in den Lösungen neutraler Salze organischer Säuren z. B. Natriumacetat unter Zuhülfenahme eines Theils des Alkalis. Aus ihren Lösungen in Alkalien wird sie durch Zusatz gesättigter Ammonsulfatlösung gefällt.

Zusammensetzung.

Analyse der Säure aus:	C	H	N	S	
Hühnereiweiss . . .	51,21;	6,89;	14,59;	1,77 pCt.	(Maly)
Krystall. Ovalbumin .	50,73;	7,02;	14,70;	S nicht bestimmt	(Bondzyński u. Zoja[1]).

Eigenschaften.

Ausser der Oxyprotsulfonsäure entstehen noch Propeptone und Peptone, Fettsäuren, basische Körper, welche nach Ausscheidung der Oxyprotsulfonsäure im Filtrat nachgewiesen werden können, sowie Kohlensäure und Ammoniak (Bernert[2]). Die Oxyprotsulfonsäure sowie die Propeptone und Peptone geben die Biuret- und Molisch'sche Reaction, nicht aber die Xanthoproteïnprobe und die Reactionen von Millon und Adamkiewicz (§ 280 B). Die Schwefelbleiprobe, in der gewöhnlichen Weise angestellt, fällt negativ aus, indessen enthält die Säure nach Schulz[3]) doch locker gebundenen Schwefel.

Zersetzungen.

Beim Schmelzen mit Aetzkali entstehen schweflige Säure, Säuren der Fett- und Oxalsäurereihe und von aromatischen Körpern nur Benzol und Pyrrol; auch die Propeptone und Peptone liefern bei der gleichen Behandlung weder Indol noch Skatol. Bei der Oxydation mit Chromsäuregemisch entsteht Benzoësäure, bei der Spaltung mit conc. Salzsäure Leucin, Asparaginsäure, basische Producte, kein Tyrosin.

Durch weitere mehrwöchige Einwirkung von Kaliumpermanganat entsteht ausser der Oxyprotsulfonsäure Peroxyprotsäure. Ueber diese siehe Maly.

318. **Oxyproteïn** nennt Schulz (a. a. O.) eine durch Wasserstoffhyperoxyd aus Eieralbumin erhaltenes Product, das schon früher von Chandelon und Wurster beobachtet worden ist. Bei der Einwirkung von Wasserstoffhyperoxyd bei Gegenwart von Platinmohr auf eine Lösung von krystallisirtem Ovalbumin bei Bluttemperatur scheidet es sich im Verlauf mehrerer Tage ab. Durch Lösen des abfiltrirten und gewaschenen Niederschlags in ganz schwacher Natronlauge, Wiederausfällen durch Neutralisiren mit Salzsäure und mehrfaches Wiederholen dieses Processes lässt es sich reinigen. C 50,85; H 6,74; N 14,62; S 1,2 pCt. Löslich in äusserst verdünntem Alkali, durch Neutralsalze oder Neutralisation mit Säure fällbar, im Ueberschuss der Säure nicht löslich, ebenfalls nicht löslich in Natriumacetatlösung (Unterschied von Oxyprotsulfonsäure). Alle Farbenreactionen positiv mit Ausnahme der Liebermann'schen (§ 280 B). Bei der hydrolytischen Spaltung wurde kein Tyrosin gefunden.

Bei der Benutzung von reinem (säurefreien) Wasserstoffsuperoxyd entsteht kein Propepton und Pepton, sondern nur Oxyproteïn.

319. **Xanthoproteïnsäure (Xanthoproteïn).** Dieses Product, welches aus Eiweiss bei der Einwirkung von Salpetersäure unter Eintritt von Nitrogruppen und gleichzeitiger Oxydation entsteht, ist neuerdings von v. Fürth[4]) untersucht worden, der auch feststellte, dass nebenbei eine reichliche Bildung von meist ebenfalls nitrirten Propeptonen und Peptonen erfolgt. Man stellt die Substanz nach v. Fürth dar durch vorsichtiges Eintragen von fein gepulvertem Caseïn in das Doppelte seiner Gewichtsmenge reiner, etwas Harnstoff enthaltender, concentrirter Salpetersäure. Nach erfolgter Lösung bringt man die Flüssigkeit in das mehrfache Volumen Wasser, filtrirt den entstandenen hellgelben Niederschlag ab, löst ihn in Natronlauge und fällt die rothbraune Lösung mit Essigsäure. Lösung und Fällung wird wiederholt, der Niederschlag schliess-

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **19**. 225. (1894.) 2) Ebendas. **26**. 272. (1899.)
3) Ebendas. **29**. 86. (1900.)
4) Habilitationsschrift. Strassburg 1899; hier auch die ältere Literatur.

lich dialysirt. Er sieht gelb aus und löst sich in Alkalien mit rothbrauner Farbe. Millon's Probe und Schwefelbleiprobe (§ 280 B) negativ. Bei der Spaltung bildet sich kein Tyrosin, bei der Verdauung entstehen nitrirte Propeptone und Peptone.

320. **Halogensubstituirte Eiweissstoffe.** Ein natürlich vorkommender, das Thyreoglobulin (§ 295), ist bereits beschrieben worden. Durch Einwirkung von Halogen auf die verschiedensten Eiweissstoffe hat man auch künstlich Halogen in das Eiweiss eingeführt und Körper hergestellt, welche Halogen in fester Bildung enthalten. Es sind das braune oder graue, amorphe Substanzen, in Wasser unlöslich, löslich in Alkalien, durch Säuren wieder fällbar. Sie geben von den Farbenreactionen (§ 280 B) nur die Biuret-, die Xanthoproteïn- und die Molisch'sche Probe. Der maximale Halogengehalt ist für die verschiedenen Eiweissstoffe verschieden, z. B. für Jodovalbumin 9 pCt., für Jodserumalbumin 12 pCt. Näheres über Jodeiweissstoffe und die Methode ihrer Darstellung siehe besonders in den Arbeiten von Hofmeister[1]), Kurajeff[2]), Blum[3]), über die übrigen Halogeneiweissstoffe bei Blum und Vaubel[4]), Hopkins[5]).

Histone.

Vorkommen.

321. Die Histone sind basische Eiweissstoffe mit hohem Stickstoffgehalt (16,9—19,8 pCt.), welche sich im Körper in Verbindung mit sauren Atomcomplexen finden und durch verdünnte Säure abgetrennt werden können. Die Aufstellung dieser Gruppe rührt von Kossel[6]) her, welcher das erste Histon aus den rothen Blutkörperchen der Gans isolirte. Es gehören dazu Körper, die aus dem Nucleohiston, dem Haemoglobin und verschiedenen Fischspermen gewonnen sind. Die Testikel aller Fische scheinen im unreifen Zustande ein Histon zu enthalten, dasselbe geht bei einigen beim Reifwerden in Protamin über, bei anderen bleibt es erhalten. Aus Leber, Niere, Pancreas ist kein Histon erhalten worden.

Allgemeine Eigenschaften.

Sie stimmen in ihren Reactionen zum Theil mit den Eiweissstoffen, zum Theil mit den Propeptonen, zum Theil mit den Protaminen überein. Characteristisch für die Histone sind ihre basischen Eigenschaften, die durch ihren hohen Basengehalt bedingt sind und sich äussern in ihrer Fällbarkeit durch die Alkaloïdreagentien bei neutraler Reaction. Die Histone rufen in Eiweisslösungen Fällungen hervor und geben die Biuretreaction (§ 280, 8). Im übrigen zeigen sie Verschiedenheiten in Zusammensetzung und Eigenschaften, wenn auch manche Reactionen z. B. die Fällbarkeit durch Ammoniak, das Verschwinden des durch Salpetersäure hervorgerufenen Niederschlages in der Wärme und Wiedererscheinen beim Abkühlen, die Gerinnbarkeit beim Erhitzen einer neutralen, salzhaltigen Lösung für mehrere gemeinsam sind.

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **24**. 159. (1898.)
2) Ebendas. **26**. 462. (1899.) 3) Ebendas. **28**. 288. (1899.)
4) Journ. f. prakt. Chem. N. F. **56**. 393. (1897.), **57**. 365. (1898.)
5) Ber. d. d. chem. Ges. **30**. 1860. (1897.), **31**. 1311. (1898.)
6) Zeitschr. f. physiol. Chem. **8**. 511. (1884.)
Bang, Ebendas. **27**. 463. (1899.)

322. **Histon aus den rothen Blutkörperchen der Vögel** wurde von Kossel erhalten durch Behandlung von Blutkörperchenbrei (Gans) mit Wasser unter Zusatz von Aether, Filtriren und Behandlung des mit Wasser gewaschenen Rückstandes mit verdünnter Salzsäure. Aus der abfiltrirten salzsauren Lösung fällt man das Histon durch Eintragen von Kochsalz, schwemmt es in Wasser auf und dialysirt. Dabei geht das Histon in Lösung. Darstellung.

Die so erhaltene, salzfreie, neutrale Lösung wird gefällt*): Allgemeine Histonreactionen

1. durch vorsichtigen Zusatz von Ammoniak.

2. durch vorsichtigen Zusatz von Alkalien und alkalischen Erden, Ueberschuss wirkt lösend.

3. durch Salpetersäure, der Niederschlag verschwindet beim Erwärmen, um beim Erkalten wieder zu kommen.

4. durch Alkaloïdreagentien (phosphorwolframsaures Natron, pikrinsaures Natron, Ferrocyankalium) ausser bei saurer, auch bei neutraler Reaction.

5. durch Eiweisslösungen.

6. sie wird beim Kochen nicht coagulirt, aber wohl nach Zusatz von etwas Salz; der Niederschlag ist in Salzsäure leicht löslich.

Der durch Ammoniak nach 1. hervorgerufene Niederschlag (C 52,31; H 7,09; N 18,46 pCt. S nicht bestimmt) ist nach Kossel ganz unlöslich und verhält sich wie ein coagulirter Eiweissstoff; nach Bang löst er sich in überschüssigem Ammoniak und wird aus der Lösung durch Ammoniaksalz wieder abgeschieden. Die Histonlösung wird ausserdem gefällt durch mehr weniger vollständige Sättigung mit Ammonsulfat, Magnesiumsulfat, Kochsalz, Natriumcarbonat, durch Alkohol (der Niederschlag C 50,67; H 6,99; N 17,93; S 0,5 pCt. ist in Wasser leicht löslich); nicht gefällt durch Chlorcalcium, Sublimat, neutrales und basisches Bleiacetat, Natriumphosphat. Sie giebt die Biuret-, die Xanthoproteïnprobe, schwache Millon'sche Probe (§ 280 B). Bei der Spaltung mit Barytwasser wurde Leucin und Tyrosin erhalten.

323. **Histon aus Nucleohiston** wird als Niederschlag erhalten, wenn man Nucleohiston (§ 370, a) mit 0,8 proc. Salzsäure behandelt und das Filtrat mit Ammoniak versetzt (Lilienfeld[1]). Fleroff stellte es direct aus Thymusdrüse dar (§ 329). Darstellung.

Es zeigt folgende Zusammensetzung C 52,37; H 7,70; N 18,35; S 0,62 pCt. und stimmt in seinem Verhalten mit dem vorigen überein. Der durch Ammoniak in der salzfreien Lösung erhaltene Niederschlag löst sich im Ueberschuss, auf Zusatz von Ammoniaksalz tritt er wieder auf. Zusammensetzung und Eigenschaften.

---

*) Diese Reactionen gelten sämmtlich oder theilweise auch für die andern Histone. Unterscheidende Merkmale finden sich bei den einzelnen angegeben.

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **18**. 473. (1894.) Bang, a. a. O. Lawrow, Ebendas. **28**. 388. (1899.)

Vergl. übrigens Huiskamp[1]), der gerade umgekehrt fand, dass die Gegenwart von Salmiak die Fällung durch Ammoniak hindert.

Zersetzung. Bei der hydrolytischen Spaltung entstehen 1,66 pCt. Ammoniak, 1,21 pCt. Histidin, 14,36 pCt. Arginin und 7,7 pCt. Lysin (Kossel und Kutscher[2]).

Darstellung. 324. **Globin**, der im Haemoglobin (§ 355) neben der Farbstoffgruppe hauptsächlich vorkommende Proteïnstoff wird nach Schulz[3]) in folgender Weise dargestellt: Eine salzfreie Haemoglobinlösung wird mit sehr wenig stark verdünnter Salzsäure versetzt, bis eine flockige, braune Fällung eben wieder gelöst ist, $^1/_5$ Vol. 80 proc. Alkohol hinzugefügt und mehrmals mit dem halben Vol. Aether geschüttelt. Die klare wässrige Lösung scheidet beim Neutralisiren mit Ammoniak einen flockigen Niederschlag ab, der schnell abgesaugt, mit Wasser gewaschen, dann in Wasser unter Zusatz einiger Tropfen verdünnter Essigsäure gelöst und dialysirt wird. Aus der so erhaltenen klaren Lösung fällt das Globin auf Zusatz von Alkohol aus.

Zusammensetzung und Eigenschaften. Seine Zusammensetzung ist C 54,97; H 7,20; N 16,89; S 0,42. Es giebt die § 322 unter 1 bis 6 aufgeführten Reactionen. Der in der salzfreien neutralen Lösung durch Ammoniak entstehende Niederschlag löst sich ausserordentlich leicht im Ueberschuss, in dieser ammoniakalischen Lösung ruft Salmiak nur dann einen Niederschlag hervor, wenn die Lösung nicht zu viel Ammoniak enthält. Salzfreie neutrale Lösung wird schon durch sehr geringen Zusatz von Ammonsulfat und Kochsalz, ferner durch Alkohol gefällt, nicht gefällt durch Chlorcalcium, neutr. Bleiacetat, Kupfersulfat, Eisenchlorid, Natriumphosphat. Schöne Biuretreaction, Xanthoproteïnprobe, Millon's und Adamkiewicz Probe schwach, Molisch's so gut wie negativ, Schwefelbleiprobe nur bei Gegenwart von Zink positiv (§ 280 B).

Zersetzungen. Bei der Säure- und Trypsinspaltung tritt Leucin auf, während Tyrosin nicht nachgewiesen werden konnte. (Bei der hydrolytischen Spaltung des Haemoglobins fand Pröscher[4]) Tyrosin und andere Aminosäuren, was auf die Existenz mehrerer Proteïnstoffe im Hämoglobin schliessen lässt.) Bei der hydrolytischen Spaltung entstehen ungefähr 20—21 pCt. basische Producte, darunter alle 3 Hexonbasen (Lawrow[5]).

Darstellung. 325. **Scombron** wurde von Bang (a. a. O.) durch Extraction von mit Alkohol ausgekochtem und getrocknetem, unreifem Makrelensperma mit 0,8 proc. Salzsäure, Fällen der salzsauren Lösung mit Natronlauge und Wiederholung des Lösung- und Fällungsprocesses erhalten.

Zusammensetzung und Eigenschaften. Die Zusammensetzung ist C 49,86; H 7,23; N 19,79; S 0,79 pCt. Es giebt die in § 322 unter 1, 3, 4, 5 und 6 aufgeführten Reactionen, unter-

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **32**. 149. (1901.) [2]) Ebendas. **31**. 165. (1901.)
[3]) Ebendas. **24**. 449. (1898.) **25**. 33. (1898.) Bang, a. a. O.
[4]) Ebendas. **27**. 114. (1899.) [5]) Ber. d. d. chem. Ges. **34**. 101. (1901.)

scheidet sich aber darin, dass der durch Ammoniak hervorgerufene Niederschlag durch überschüssiges Ammoniak nicht gelöst wird und dass seine Lösungen etwas mehr Alkali zur Fällung und viel mehr zur Wiederlösung des Niederschlags brauchen, als es bei den anderen Histonen der Fall ist, und durch Sublimat gefällt werden. Ammonsulfat und Kochsalz geben Niederschläge. Biuret-, Xanthoproteïn- und Schwefelbleiprobe positiv, Millon'sche Probe sehr schwach (§ 280 B).

Dem Scombron ähnlich verhalten sich aus unreifem Sperma von Häring und Quappe dargestellte Histone (Bang), sowie die von Miescher[1]) aus unreifer Lachsmilch isolirte „Albuminose".

326. **Gadushiston** wurde von Kossel und Kutscher (a. a. O.) dargestellt durch Extrahiren der mit Alkohol und Aether behandelten und getrockneten, reifen Spermatozoën von Kabeljau mit verd. Salzsäure, Sättigen der filtrirten Flüssigkeit mit Kochsalz, Dialysiren des mit Wasser angeriebenen Niederschlags und Fällen der im Dialysirschlauch entstandenen Lösung durch Ammoniak. Darstellung.

Es enthält 18,65 pCt. N, zeigt im Allgemeinen die Histonreactionen (§ 322). Genauere Angaben liegen nicht vor. Bei der hydrolytischen Spaltung entstehen 0,74 pCt. Ammoniak, 2,34 pCt. Histidin, 15,52 pCt. Arginin und 8,30 pCt. Lysin (Kossel und Kutscher). Eigenschaften u. Zersetzung.

327. **Lotahiston**, von Ehrström[2]) aus dem reifen Sperma von Lota vulgaris dargestellt, enthält 16,46 pCt. N. Es zeigt die in § 322 unter 1, 2, 4 und 5 aufgeführten Reactionen; der durch Ammoniak hervorgerufene Niederschlag ist im Ueberschuss löslich und erscheint auf Zusatz von Salmiak wieder. Ammonsulfat und Kochsalz wirken fällend, ebenso basisches Bleiacetat; nicht fällend: Kupfersulfat, Quecksilbernitrat, Eisenchlorid und Bleizucker. Es unterscheidet sich darin von den anderen, dass der durch Kochen der neutralen, salzhaltigen Lösung entstehende Niederschlag in Säuren unlöslich ist und dass Salpetersäure keinen Niederschlag hervorruft. Seine mit Schwefelsäure hergestellte Lösung wird durch Alkohol gefällt, die mit Salzsäure hergestellte nicht. Biuret- und Xanthoproteïnreaction positiv, Reaction von Millon und Adamkiewicz schwach, Reaction von Molisch stark (§ 280 B). Eigenschaften.

Bei der hydrolytischen Spaltung entstehen 0,66 pCt. Ammoniak, 2,85 pCt. Histidin, 12,0 pCt. Arginin und 3,17 pCt. Lysin. Zersetzung.

328. **Arbacin** wurde von Mathews[3]) durch Extraction der reifen, mit heissem Alkohol und Aether erschöpften Spermatozoën von Arbacia (Seeigel) mit 1—2 proc. Schwefelsäure und Fällen des Auszugs mit Alkohol als Sulfat erhalten. Das Sulfat enthält 15,9 pCt. N. Es giebt die in Darstellung und Eigenschaften.

---

1) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **37.** 151. (1896.)

2) Zeitschr. f. physiol. Chem. **32.** 350. (1901.) 3) Ebendas. **23.** 399. (1897.)

§ 322 unter 4 und 5 aufgeführten Reactionen, wird aber nicht durch Ammoniak gefällt oder wenigstens nur in concentrirter Lösung theilweise. Es giebt die Millon'sche und Biuretreaction (§ 280 B).

Vorkommen. 329. **Parahiston** nennt Fleroff[1]) einen neben dem Histon aus der Thymusdrüse darstellbaren, ebenfalls basischen Eiweissstoff, der nicht nur in seinem Verhalten, sondern vor Allem darin von den Histonen abweicht, dass er bei der Spaltung nur wenig basische Stoffe[2]) liefert.

Darstellung. Zu seiner Darstellung wird die zerkleinerte, mit Alkohol und Aether erschöpfte Drüse 48 Stunden mit 2proc. Schwefelsäure ausgezogen, der in dem Auszuge durch die dreifache Menge Alkohol hervorgerufene Niederschlag abfiltrirt, in heissem Wasser gelöst und mit Natriumpikrat versetzt, das Pikrat mit 2proc. Schwefelsäure und Aether von der Pikrinsäure befreit und die Lösung mit Alkohol gefällt. Das durch wiederholtes Lösen und Fällen gereinigte Sulfat (ein weisses Pulver) wird in heissem Wasser gelöst, die heisse Lösung mit überschüssigem Ammoniak gefällt (der Niederschlag ist Lilienfeld's Histon, siehe § 323). Filtrat und Waschwasser werden mit überschüssigem Alkohol gefällt. Die Lösung des Niederschlags in heissem Wasser versetzt man zunächst mit wenig Alkohol, filtrirt von der Trübung ab und schlägt aus dem Filtrat durch Alkohol und Aether das Parahiston nieder.

Eigenschaften. Die Zusammensetzung ist C 51,84; H 7,93; N 17,84; S 1,99 pCt. Die wässrige Lösung reagirt alkalisch. Ammoniak fällt weder bei An- noch bei Abwesenheit von Ammoniaksalzen. Salpetersäure fällt nicht, beim Kochen der wässrigen Lösung entsteht kein Niederschlag. Alkaloïdreagentien fällen es, mit Serumeiweiss giebt es einen Niederschlag, nicht aber mit Ovalbumin und Pepton-Witte. Gesättigte Ammonsulfatlösung giebt Fällung, gesättigte Zinksulfat- oder Kochsalzlösung nicht, auch nicht Sättigen mit Kochsalz. Biuretreaction positiv, Millon's Reaction sehr schwach, Adamkiewicz' Reaction negativ (§ 280 B).

Protamine.

Vorkommen. 330. Die Protamine sind stickstoffreiche (25—30pCt. N) Körper stark basischer Natur von hohem Molekulargewicht, welche in dem reifen oder der Reife sehr nahen Sperma vieler Fische in Verbindung mit Nucleïnsäure sich finden. Bis jetzt sind Protamine oder protaminähnliche Körper aus dem Sperma von Lachs, Häring, Makrele, Stör, Accipenser, Seehase, Bachforelle, Schnäpel, Hecht, Wels isolirt worden. Miescher[3]) hat das erste Protamin aus Lachssperma dargestellt und genauer beschrieben; die Aufstellung der Gruppe rührt von Kossel[4]) her. Kossel ist der Ansicht, dass ein Protaminkern die Grundlage aller Proteïnkörper bildet und bezeichnet die Protamine als einfachste Eiweissstoffe.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **28**. 307. (1899.) Bang, Ebendas. **30**. 518. (1900.)

[2]) Kossel u. Kutscher, Ebendas. **31**. 212. Fussnote. (1901.)

[3]) Miescher, Verh. d. naturf. Ges. in Basel. IV. 1. Heft. S. 153. (1874.)
Ber. d. d. chem. Ges. **7**. 376.. (1874.)
Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **37**. 100. (1896.)
Piccard, Ber. d. d. chem. Ges. **7**. 1714. (1874.)

[4]) Kossel, Zeitschr. f. physiol. Chem. **22**. 176. (1897.), **25**. 165. (1898.) u. **26**. 588. (1899.) Ber. d. d. chem. Ges. **34**. 3233. (1901.)

Zur Darstellung der Protaminsulfate nach Kossel werden die reifen oder fast reifen Testikel zerhackt, mit Wasser anhaltend geschüttelt und durch ein Tuch geseiht. Die in der milchigen colirten Flüssigkeit suspendirten morphotischen Elemente ballen sich auf Zusatz einiger Tropfen Essigsäure zusammen, werden abfiltrirt, mehrmals mit Alkohol ausgekocht, mit Aether extrahirt und bei Zimmertemperatur getrocknet. Die trockne Masse (etwa 100 g) schüttelt man $^1/_4$ Stunde mit dem 5 fachen Vol. 1 proc. Schwefelsäure, saugt ab, wiederholt das Ausschütteln noch mehrmals, fällt die vereinigten Filtrate mit der dreifachen Menge Alkohol, dekantirt nach 12 bis 24 Stunden, saugt den Niederschlag, welcher aus Protaminsulfat besteht, ab, löst ihn in heissem Wasser und wiederholt die Alkoholfällung. Löst man nun den Niederschlag in etwa $1^1/_2$ Liter heissem Wasser und lässt die Lösung erkalten, so scheidet sich ein kleiner Theil des Sulfats als gelb oder bräunlich gefärbtes Oel ab. Dieser am schwersten lösliche Theil des Sulfats wird ausgeschieden, die über dem Oel befindliche Flüssigkeit abgetrennt, auf ein kleines Vol. eingedampft und zur Gewinnung der Hauptmenge des Oels im Scheidetrichter stehen gelassen. Um diese Fraction von den letzten Spuren von Nucleïnsäure, die ihr hartnäckig anhaften, zu befreien, wird das in warmem Wasser gelöste Protaminsulfat mit Natriumpikrat ausgefällt, der gut ausgewaschene Niederschlag möglichst bald bei Gegenwart eines Ueberschusses von Schwefelsäure durch Ausschütteln mit Aether von Pikrinsäure befreit, das Protaminsulfat aus der schwefelsauren Lösung mit Alkohol gefällt und diese Alkoholfällung noch einmal wiederholt. Das Sulfat soll als ein lockerer, weisser Niederschlag fallen; hat die Fällung klebrige Beschaffenheit, so muss die Lösung in Wasser und die Ausfällung durch Alkohol wiederholt werden. Die Darstellung verläuft bei Salmin und Clupeïn völlig gleich. Sturin- und Accipenserinsulfat sind in Wasser leichter löslich, man muss deswegen die Lösung weiter eindampfen, um die Abscheidung des Oels zu erzielen. Ueber die Darstellung des Cyclopterins vergl. Morkowin[1]). *Darstellung der Protaminsulfate.*

Die Protamine sind im Gegensatz zu den andern Proteïnkörpern schwefelfrei, sie lösen sich in Wasser mit alkalischer Reaction, in Alkohol und Aether sind sie unlöslich. Sie coaguliren nicht beim Kochen und diffundiren nicht. Sie zeigen Linksdrehung und geben die Biuretreaction, nicht die Adamkiewicz'sche und mit Ausnahme von Cyclopterin nicht die Millon'sche (§ 280 B). Die Sulfate, welche von den Salzen am Genauesten untersucht sind, bilden im trocknen Zustande weisse Pulver und scheiden sich beim Erkalten ihrer sauer reagirenden, heissen, wässerigen Lösungen besonders auf Zusatz von Aether als Oel ab (charakteristische Eigenschaft). Die wässerigen Lösungen der Salze werden durch die Alkaloïdreagentien (phosphorwolframsaures Natron, pikrinsaures Natron, Ferrocyankalium) schon *Allgemeine Eigenschaften.*

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **28**. 313. (1899.)

bei neutraler, ja schwach alkalischer Reaction gefällt. Jodjodkalium und Salze der Schwermetalle z. B. Sublimat erzeugen ebenfalls Niederschläge; auch durch Eintragen von Kochsalz und Ammoniumsulfat werden sie abgeschieden. Ammoniakalische Protaminlösungen geben mit coagulirbaren Eiweissstoffen und Propeptonen Niederschläge von den Eigenschaften der Histone. Aus einer Lösung von nucleïnsaurem Natron wird durch die Lösung eines Protaminsalzes nucleïnsaures Protamin gefällt.

Zersetzungen. Beim Kochen mit Säuren, ebenso bei der tryptischen Verdauung[1]) entstehen aus den Protaminen peptonartige Stoffe (Protone) und weiterhin in sehr reichlicher Menge Diaminosäuren (besonders Arginin), aber wenig Monaminosäuren und kein Ammoniak. Durch Pepsinsalzsäure scheinen sie nicht angegriffen zu werden.

Vorkommen. 331. **Salmin**, zuerst von Miescher aus Lachssperma gewonnen und als „Protamin" bezeichnet, wurde von Kossel genauer untersucht und findet sich neben Clupeïn vielleicht auch im Häringssperma.

Zusammensetzung und Eigenschaften. Die Zusammensetzung, welche noch nicht ganz sicher gestellt ist, entspricht etwa der Formel $(C_{30}H_{57}N_{17}O_6)x$. Das Sulfat löst sich zu 1,27 pCt. in Wasser bei Zimmertemperatur und zeigt $[\alpha]_D = -81^0$. Das sich beim Erkalten nicht zu verdünnter, warmer Lösungen abscheidende, farblose Oel hat den Brechungscoefficienten 1,442. Eine 5 proc. saure Lösung des Sulfats wird durch das gleiche Volumen gesättigter Kochsalzlösung gefällt. Das Platindoppelsalz scheidet sich beim Versetzen einer salzsauren Salminlösung mit Platinchlorid als gelber, nicht krystallinischer Niederschlag ab, der in überschüssiger Salzsäure, aber nicht in Wasser, Alkohol oder Aether löslich ist. Eine schwer lösliche Kupferoxydulverbindung entsteht, wenn man die Lösung des Sulfates mit Kupfersulfat und Natriumhyposulfit zusammenbringt. Versetzt man eine alkalische Salminlösung mit Benzoylchlorid, so fällt die schwer lösliche Benzoylverbindung aus. Ueber Darstellung und weitere Eigenschaften siehe § 330.

Zersetzung. Bei der hydrolytischen Spaltung entstehen 84,3 pCt. Arginin und einige Procente Aminovaleriansäure, aber weder Lysin und Histidin noch Ammoniak (Kossel und Kutscher[2]).

332. **Clupeïn** wurde von Kossel[3]) aus Häringssperma gewonnen und ist dem vorigen sehr ähnlich. Die Zusammensetzung entspricht etwa der Formel $(C_{30}H_{63}N_{14}O_9)x$. Das Sulfat zeigt eine ähnliche Löslichkeit in Wasser und ähnliche spec. Drehung wie das Salminsulfat und verhält sich auch im Uebrigen wie dieses. Ueber Darstellung und weitere Eigenschaften siehe § 330.

Zersetzung. Bei der hydrolytischen Spaltung entstehen 82,2 pCt. Arginin und einige Procente Aminovaleriansäure, aber weder Histidin und Lysin noch Ammoniak.

---

[1]) Kossel u. Mathews, Zeitschr. f. physiol. Chem. **25.** 190. (1898.)

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **31.** 180. (1901.)

[3]) a. a. O. Kurajeff, Ebendas. **26.** 524. (1899.)

333. **Scombrin** wurde aus Makrelensperma von Kurajeff (a. a. O.) dargestellt. Das Sulfat, für das am Besten die Formel $C_{30}H_{60}N_{16}O_6 . 2 H_2SO_4$ passt, verhält sich dem Clupeïnsulfat sehr ähnlich. Ueber Darstellung und Eigenschaften siehe § 330.

Unter den Producten der hydrolytischen Spaltung wurden Arginin und Aminovaleriansäure nachgewiesen. Zersetzung.

334. **Sturin** wurde aus Störsperma von Kossel (a. a. O.) dargestellt. Das Sulfat, dessen Zusammensetzung wahrscheinlich der Formel $4 C_{36}H_{69}N_{19}O_7 . 11 H_2SO_4$ entspricht, ist löslicher als Salminsulfat, so dass sich aus einer 10 proc. Lösung beim Erkalten noch kein Oel abscheidet. Ammoniak erzeugt in nicht zu verdünnter Lösung ölige Fällung und ebenso erfolgt auf Zusatz von wenig Aether oder einigen Tropfen Alkohol oder Aceton sofort die Abscheidung einer öligen Masse. Auch durch Kochsalz werden seine Lösungen schwerer gefällt. Mit Benzoylchlorid giebt es ebenso wie Salmin eine unlösliche Verbindung. Ueber Darstellung und weitere Eigenschaften siehe § 330.

Unter den Producten der hydrolytischen Spaltung wurden gefunden: 84 pCt. Hexonbasen u. z. 58,2 pCt. Arginin, 12,9 pCt. Histidin und 12,0 pCt. Lysin, ferner Aminovaleriansäure (Kossel und Kutscher). Zersetzung.

335. **Accipenserin** wurde aus Sperma von Accipenser stellatus von Kurajeff[1]) dargestellt. Sulfat $C_{35}H_{72}N_{18}O_9 . 4 H_2SO_4$, ebenfalls viel löslicher als Salminsulfat, nur aus sehr concentrirter Lösung sich als Oel abscheidend. Ueber Darstellung und weitere Eigenschaften siehe § 330.

336. **Cyclopterin** wurde aus Seehasensperma von Morkowin (a. a. O.) dargestellt. Das Sulfat enthält C 42,0; H 6,73; N 22,37; S 8,1 pCt., wird auch als Oel erhalten. Es unterscheidet sich von andern Protaminen dadurch, dass es die Millon'sche Reaction giebt. Ueber Darstellung und weitere Eigenschaften siehe § 330.

Bei der hydrolytischen Spaltung liefert es 62—63 pCt. Arginin, kein Lysin und Histidin, aber 8—9 pCt. Tyrosin (Kossel und Kutscher). Zersetzung.

Albuminoïde.

337. Die Albuminoïde bilden eine Klasse von Stoffen, welche an der Bildung der Gewebe, der Formgebung und Festigkeit der Organe betheiligt sind und sich durch Reactionen, durch ihre Verdauungs- und Spaltungsproducte als nahe Verwandte der Eiweissstoffe erkennen lassen.

Von den Bestandtheilen der Organe höherer Thiere gehören hierher die Gruppe der Keratine, das Elastin, das Collagen, die Linsen- und Knorpel-Albuminoïde, die Membranine, von den Bestandtheilen der Avertebraten das Conchiolin, Corneïn, Spongin, Fibroïn und Sericin.

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **32**. 197. (1901.)

Vorkommen. 338. **Keratine** bilden den Hauptbestandtheil der Hornsubstanzen (Haare, Nägel, Epidermis, Horn, Schildpatt, Fischbein, Federn, Schalenhaut der Vogeleier). Man erhält sie als unlösliche Rückstände, wenn man die fein zerkleinerten Substanzen mit Alkohol, Aether und Wasser auskocht und dann nach einander der peptischen und tryptischen Verdauung unterwirft.

Zusammensetzung. Ihre Zusammensetzung schwankt bedeutend: C 49,5—55,0; H 6,4—7,0; N 16,2—17,7; S 2,59—5,63 pCt., so dass man mehrere Keratine unterscheiden muss. Charakteristisch für die ganze Gruppe ist der hohe Schwefelgehalt. Ueber genaue Schwefelbestimmungen in verschiedenen Keratinen siehe bei Mohr[1]). K. A. H. Mörner[2]) fand in Menschenhaaren bei 5,63 pCt. Gesammtschwefel 4,07 pCt. bleischwärzenden, in Rinderhorn bei 3,39 pCt. Gesammtschwefel 2,48 pCt. bleischwärzenden.

Eigenschaften. Die Keratine quellen wenig in Wasser, sind aber trocken recht hygroskopisch. Beim Kochen mit Wasser ändern sie sich kaum, aber mit Wasser auf 150° längere Zeit erhitzt lösen sie sich, einige unter Entwicklung von Schwefelwasserstoff, zu einer trüben Flüssigkeit, die beim Verdampfen einen in Wasser kaum löslichen Rückstand hinterlässt. In conc. Schwefelsäure lösen sie sich leicht; auch in kochenden Alkalien sind sie unter Bildung von Schwefelalkali löslich. Biuret-, Millon's und Schwefelbleiprobe sehr stark, Xanthoproteïnprobe ebenfalls positiv (§ 280 B).

Zersetzungen. Der Magen- und Pancreasverdauung, ebenso der Fäulniss widerstehen sie sehr hartnäckig. Unter den Producten der hydrolytischen Spaltung von Haaren und Horn wurden bis jetzt gefunden Schwefelwasserstoff, Ammoniak, Leucin, Asparaginsäure, viel Glutaminsäure (Horbaczewski[3]), viel Tyrosin (aus Hornspähnen bis zu 5 pCt. Piria[4]), viel Cystin (aus Horn über 6 pCt., aus Menschenhaaren über 11 pCt.), Lysin, Arginin. Die Schalenhaut des Hühnereis lieferte kein Tyrosin und zeigte dementsprechend auch keine typische Millon'sche Reaction (K. Mörner).

Neurokeratin. 339. Neurokeratin, Bestandtheil der markhaltigen Nerven, wird nach Kühne und Chittenden[5]) als Rückstand erhalten, nachdem das Gehirn oder Rückenmark nach einander mit kaltem und heissem Alkohol, sowie Aether extrahirt, der Pepsin- und Trypsinverdauung unterworfen, mit 0,5 proc. Alkali und nochmals mit Alkohol und Aether behandelt worden ist. Die Zusammensetzung wurde gefunden zu C 56,11—58,45; H 7,27 bis 8,02; N 11,46—14,32; S 1,63—2,24; Asche 0,74—2,38 pCt. Es löst sich schwer in heisser starker Kalilauge und giebt beim Neutralisiren mehr Niederschlag als Keratin bei gleicher Behandlung. Auch in ziemlich concen-

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **20**. 403. (1895.) [2]) Ebendas. **34**. 207. (1902.)
[3]) Wien. Akad. Sitz.-Ber. **80**. II. (1879.)
[4]) Ann. Chem. Pharm. **82**. 241. (1852.)
[5]) Zeitschr. f. Biolog. **26**. 291. (1889.)

trirter Schwefelsäure ist das Neurokeratin nur langsam löslich. Beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure werden Tyrosin und Leucin erhalten; von letzterem weniger als aus den Eiweissstoffen.

340. Keratinoïde Substanz nennt Hedenius[1]) die durch sehr verdünntes Ammoniak, essigsäurehaltiges Wasser, Wasser, Alkohol und Aether gereinigte Substanz des Muskelmagens der Hühner. C 53,21; H 7,17; N 15,78; S 1,13; Asche 0,47 pCt. In Wasser ganz unlöslich, in conc. Salzsäure, 5—10 proc. Kalilauge bei Zimmertemperatur löslich. Xanthoproteïn-, Millon's und Schwefelbleiprobe positiv (§ 280 B). Gegen Verdauungsfermente sehr widerstandsfähig, bei der Spaltung viel Leucin, wenig Tyrosin liefernd. Keratinoïde Substanz.

341. **Elastin** bildet die Substanz des elastischen Gewebes. Am reichlichsten findet es sich im Lig. nuchae. Nach Engel[2]) und Neumeister[3]) besteht die organische Grundsubstanz der Schalen mancher Reptilien- und Fischeier aus Elastin. Vorkommen.

Zu seiner Darstellung wäscht man das fein zerkleinerte Nackenband des Rindes gründlich mit Wasser, extrahirt zur Entfernung von Eiweissstoffen und Proteïden einige Tage mit mehrfach gewechseltem, halbgesättigtem Kalkwasser, kocht nach Auswaschen des Kalkes mit Wasser völlig aus, behandelt einige Stunden mit 10 proc. kochender Essigsäure, darauf etwa ebenso lange mit kalter 5 proc. Salzsäure, wiederholt die Behandlung mit Essig- und Salzsäure, wäscht mit Wasser säurefrei und kocht mit Alkohol und Aether aus. Darstellung.

Das so gewonnene Elastin hatte die Zusammensetzung C 54,14; H 7,33; N 16,87; S 0,14; O 21,52 pCt. (Richards und Gies[4]), es muss seiner Darstellung nach reiner sein als die ohne Kalkwasser (Chittenden und Hart[5]) oder die mit heisser 1 proc. Kalilauge anstatt des Kalkwassers gewonnenen Präparate. Die letzteren waren schwefelfrei (Horbaczewski[6]). Chittenden und Hart fanden: C 54,08; H 7,20; N 16,85; S 0,30; O 21,57 pCt. Ein aus dem elastischen Gewebe der Gefässe (ohne Anwendung von Kalkwasser oder Alkali) dargestelltes Elastin enthielt C 53,95; H 7,03; N 16,67; S 0,38 pCt. (Schwarz[7]). Die Analysen des Elastins aus der Aorta von Bergh[8]) weichen etwas ab. Die Substanz der Lig. flava und das Elastin der Ohrknorpel bedürfen noch weiterer Untersuchung. Zusammensetzung.

Das wie oben angegeben gewonnene Elastin besitzt eine gelbliche Farbe und lässt sich leicht zu feinem Pulver zerreiben. Beim Kochen mit Wasser wird es nicht angegriffen; fein gepulvert löst es sich bei längerem Kochen etwas in 0,2 proc. kalter Salzsäure, schnell und völlig in 1 proc. Kalilauge beim Eigenschaften.

---

1) Skand. Arch. f. Physiol. **3**. 244. (1892.)
2) Zeitschr. f. Biol. **27**. 374. (1890.) 3) Ebendas. **31**. 413. (1894.)
4) Amer. Journ. of Physiol. **7**. 93. (1902.)
5) Zeitschr. f. Biol. **25**. 368. (1889.)
6) Zeitschr. f. physiol. Chem. **6**. 330. (1882.) 7) Ebendas. **18**. 487. (1894.)
8) Ebendas. **25**. 337. (1898.)

Erwärmen, ebenso in kalter conc. Kalilauge. Beim längeren Kochen mit 1 proc. Kalilauge wird der Schwefel abgespalten. Millon's und Xanthoproteïnreaction sind positiv, die Schwefelbleiprobe (§ 280 B) gab das Elastin von Richards und Gies nicht.

Bei der peptischen und tryptischen Verdauung geht Elastin in Lösung, wenn auch langsamer als Eiweissstoffe. Die hierbei sowie beim Kochen mit Wasser auf 130—140° entstehenden Stoffe gehören in die Gruppe der primären und secundären Albumosen und sind als Protelastose (Hemielastin) und als Deuteroelastose (Elastinpepton) bezeichnet worden. Näheres über diese Körper siehe in den Arbeiten von Horbaczewski und Chittenden und Hart. Bei sehr lange fortgesetzter peptischer Verdauung entsteht auch Pepton (Richards und Gies).

Prot- u. Deuteroelastose.

Zersetzungen. Als Spaltungsproducte sind nachgewiesen: 1. bei der hydrolytischen Zersetzung durch Säuren: wenig Schwefelwasserstoff, sehr wenig Ammoniak, Glykocoll, Aminovaleriansäure, Leucin, wenig Tyrosin, nicht hydroxylirte aromatische Atomkomplexe, die bei der Oxydation Benzoësäure liefern, keine Asparagin- und Glutaminsäure (Horbaczewski[1]), Schwarz), sehr wenig Arginin, Lysin und Histidin (Richards und Gies), 2. beim Schmelzen mit Kali auf 200°: Indol, Skatol, Benzol, Phenol (Schwarz), 3. bei der Zersetzung durch Mikroorganismen: Mercaptan, Ammoniak, Buttersäure, Valeriansäure, Glykocoll, Leucin, kein Phenol, kein Indol und Skatol (Wälchli[2]), Zoja[3]).

Ichthylepidin. 342. Ichthylepidin bildet zusammen mit Collagen die organische Grundsubstanz der Schuppen vieler Fische (C. Th. Mörner[4]) und bleibt als unlösliche Masse von der ursprünglichen Gestalt und Structur der Schuppen zurück, wenn man diese zunächst nach einander in der Kälte tagelang mit 0,5 proc. Salzsäure, 0,05 proc. Kalilauge, 0,01 proc. Essigsäure und destillirtem Wasser zur Entfernung der Eiweissspuren, des Guanins und der Mineralbestandtheile, darauf mehrere Tage mit mehrmals gewechselter 0,1 proc. Salzsäure bei 40° zur Entfernung des Collagens und schliesslich mit Wasser behandelt.

Es enthält im Mittel 15,98 pCt. N und 1,09 pCt. S, wenig Asche. Weder in kaltem noch kochendem Wasser löslich, in verdünnten Säuren und Alkalien erst bei Siedehitze löslich, durch Pepsin- und Trypsinverdauung in Lösung gehend. Millon'sche, Xanthoproteïn-, Biuret- und Schwefelbleireaction positiv, Adamkiewicz'sche Reaction negativ (§ 280 B).

Collagen. Vorkommen. 343. **Collagen und Glutin (Leim).** Das Collagen stellt die Hauptmenge der die Bindegewebszellen umgebenden Grundsubstanz im lockeren Bindegewebe, in Sehnen, Bändern, Fascien dar, ebenso im Knochen die Hauptmenge der organischen Grundsubstanz, welche die Knochenkörperchen um-

---

1) Monatsh. f. Chem. **6.** 639. (1885.)
2) Journ. f. prakt. Chem. N. F. **17.** 71. (1878.)
3) Zeitschr. f. physiol. Chem. **23.** 236. (1897.)
4) Ebendas. **24.** 125. (1898.) Green u. Tower, Ebendas. **35.** 196. (1902.)

giebt; es betheiligt sich an dem Aufbau der organischen Grundsubstanz des Knorpels[1]), der Cornea[2]), der Fischschuppen[3]).

Zur Darstellung des Collagens befreit man Knochen durch Extraction mit Salzsäure von anorganischen Stoffen und durch Behandlung mit verdünnten Alkalien von organischen Beimengungen, oder Sehnen durch Extraction mit halbgesättigtem Kalkwasser oder Trypsinverdauung von Mucin und Eiweiss und wäscht das zurückbleibende Gewebe gründlich mit Wasser aus. Darstellung.

Collagen ist farblos, quillt in kaltem Wasser, noch mehr in verdünnten Säuren oder sehr schwachen Alkalilaugen, ist unlöslich in Alkohol, Aether, Chloroform, quillt auch in starken Alkalien und löst sich in ihnen beim Erhitzen, nicht in Sodalösung. Durch Magensaft wird Collagen gelöst, durch Pancreasverdauung nur dann, wenn es vorher mit Wasser über 70° erhitzt oder durch verdünnte Säure gequollen war. Durch Gerbsäure wird es zum Schrumpfen gebracht und in Leder verwandelt (Lohgerberei). In siedendem Wasser löst sich Collagen nach zuerst eingetretener Quellung und Abnahme seiner Cohaerenz und der Schärfe der Contouren der Fasern, indem es in Eigenschaften.

Glutin übergeht. Die Lösung (Leimlösung) erstarrt bei nicht zu grosser Verdünnung (schon bei einem Gehalt von 0,5—1 pCt.) beim Erkalten auf gewöhnliche Temperatur bald zu einer Gallerte und wird beim Erwärmen auf über 30° wieder flüssig. Die Leichtigkeit, mit welcher diese Umwandlung des Collagens zu Glutin (Leim) geschieht, ist am grössten bei Fischen*) und nackten Amphibien, schwieriger und langwieriger geschieht die Lösung bei Säugern und Vögeln, besonders langsam bei alten Thieren. Bei wochenlangem Stehen unter Alkohol oder Aether verliert Collagen allmählich seine Fähigkeit in Glutin umgewandelt zu werden (Tebb[4]). Die Gelatinirung erleidet durch die Anwesenheit von Salzen z. B. 10 pCt. Cloralkali, besonders Jodalkali eine Verzögerung (C. Th. Mörner[5]). Beim Eingiessen einer conc. heissen Leimlösung in Alkohol scheidet sich das Glutin ab. Glutin. Eigenschaften.

Um käuflichen Leim (Gelatine) zu reinigen, wäscht man ihn tagelang mit ätherhaltigem Wasser, behandelt ihn einige Wochen mit häufig gewechselter schwacher (bis 1 proc.) Kalilauge, dann mit Wasser, sehr ver- Reinigung von käuflichem Leim.

*) Das Collagen der Hausenblase geht schon bei Zimmertemperatur in gelatinirenden Leim über und unterscheidet sich auch sonst von dem Collagen der höheren Wirbelthiere. Hofmeister, Zeitschr. f. physiol. Chem. 2. 299. Auch das Collagen der Cephalopoden weicht nach Krukenberg in seinem Verhalten von letzterem ab (Vergl. physiol. Studien. Heidelberg. 1881. 5. Abth. S. 24).

1) Morochowetz, Verh. d. naturh. medic. Vereins zu Heidelberg. I. 480. (1877.) C. Th. Mörner, Skand. Arch. f. Physiol. I. 210. (1889.)

2) Morochowetz, a. a. O. C. Th. Mörner, Zeitschr. f. physiol. Chem. 18. 213. (1894.)

3) Weiske, Zeitschr. f. physiol. Chem. 7. 466. (1883.) C. Th. Mörner, Cit. 4. S. 340.

4) Journ. of Physiol. 27. 463. 5) Zeitschr. f. physiol. Chem. 28. 471. (1899.)

dünnter Essigsäure und wieder mit Wasser. Schliesslich wird er durch Alkohol gehärtet, event. in heissem Wasser gelöst und mit Alkohol ausgefällt (Mörner).

Zusammensetzung.

Zusammensetzung:	C	H	N	S	Asche		
Glutin aus Sehnen . . .	50,11	6,56	17,81	0,26	0,3	pCt.	(van Name[1])
gereinigte käufliche Gelatine	49,09	6,76	17,68	0,48	0,42	„	(Faust[2])
„ „ „	50,09	6,68	18,12	0,57	0,07	„	(Paal[3])
„ „ „	a. aschefr. S. ber.			0,2		„	(Mörner[4])
Glutin aus Knorpel . . .	„ „	„ „	16,14			„	(Mörner[5])
„ „ Cornea . . .			17,02	0,31	0,62	„	(Mörner[6])
„ „ Fischschuppen .			17,51	0,52	0,1—0,2	pCt.	(Mörner[7])

Reactionen.

Glutin ist in kaltem Wasser nur quellbar, löst sich in Alkalien, aber in ganz schwachen Alkalilaugen (bis 0,5 pCt.) so wenig, dass sie zur Reinigung des Glutins benutzt werden können (Mörner[4]). Seine Lösungen werden durch Säuren und im Allgemeinen auch durch Metallsalze nicht gefällt. Ferrocyankalium + Essigsäure ruft Niederschlag hervor, doch nur dann, wenn die Leimlösung nicht zu concentrirt, nicht warm, nicht salzreich, die Essigsäuremenge nicht zu gering und die Ferrocyankaliummenge nicht zu gross ist (Mörner[4]). Niederschläge entstehen ferner durch Pikrinsäure, Gerbsäure, Phosphorwolfram- oder Phosphormolybdaensäure + Salzsäure, Kaliumquecksilberjodid, durch Quecksilberchlorid bei Gegenwart von Kochsalz und Salzsäure, auch nach Sättigung mit Kochsalz durch Essigsäure, durch Sättigung mit Ammonsulfat. Biuretreaction positiv, Millon'sche Reaction (man verwende nur einige Tropfen Reagens) und Xanthoproteïnreaction positiv aber schwach, Schwefelbleireaction und die Probe von Adamkiewicz negativ (§ 280 B).

Rückverwandelung in Collagen.

Wird Leim bei 130° längere Zeit getrocknet, so geht er in einen dem Collagen ähnlichen Körper über, der durch Erhitzen mit Wasser wieder in gelatinirenden Leim übergeführt werden kann (Hofmeister[8]). Das Collagen wird hiernach als Anhydrid des Glutins aufgefasst, wie es auch den Gewichtsverhältnissen entspricht.

Optische Eigenschaften.

Glutinlösungen zeigen starke linksseitige Polarisation[9]). Die Aenderungen der Drehung mit Concentration, Temperatur u. s. w. bedürfen noch eingehender Untersuchung. Bei der Umwandlung in Glutose u. s. w. (siehe nächsten Absatz) nimmt die Drehung ab.

---

1) Maly's Jahresber. 1897. S. 34.
2) Arch. f. exp. Path. u. Pharmak. **41**. 309. (1898.)
3) Ber. d. d. chem. Ges. **25**. 1202. (1892.)
4) Zeitschr. f. physiol. Chem. **28**. 471. (1899.)
5) Skand. Arch. f. Physiol. **1**. 233. (1889.)
6) Zeitschr. f. physiol. Chem. **18**. 225. (1894.) 7) Ebendas. **24**. 135. (1898.)
8) Ebendas. **2**. 299. (1879.)
9) de Bary, Medic. chem. Unters. v. Hoppe-Seyler, Heft 1. S. 73. (1866.) Framm, Arch. f. d. ges. Physiol. **68**. 144. (1897.)

Durch anhaltendes Kochen mit viel Wasser wird der Leim nach Hofmeister unter geringer Wasseraufnahme gespalten in die beiden Körper Semiglutin und Hemicollin, ersteres fällbar durch Alkohol, bei gewöhnlicher Temperatur fällbar durch Platinchlorid, dieser Niederschlag löst sich, wenn frisch gefällt, beim Erhitzen und fällt beim Erkalten wieder aus. Das Hemicollin wird weder durch Alkohol noch durch Platinchlorid gefällt. Entsprechende bei der Pepsin- und Trypsinverdauung auftretende Körper sind von Klug[1]) sowie von Chittenden und Mitarbeitern[2]) als Glutose (Gelatose) und Glutin- (Gelatin-)pepton beschrieben worden. Ueber salzsaure Peptonsalze und Peptone, erhalten aus Glutin durch Einwirkung von verdünnter Salzsäure in der Wärme oder durch Pepsinsalzsäure, siehe Paal. Krystallinische Spaltungsproducte (Aminosäuren) treten bei der Trypsinverdauung nur in ganz geringem Maasse auf (Reich[3]). Semiglutin und Hemicollin. Glutose- u. Glutinpepton.

Unter den Spaltungsproducten des Leims durch Salzsäure wurden gefunden: 16,5 pCt. Glykocoll, 0,8 pCt. d-Alanin, 2,1 pCt. l-Leucin, 0,56 pCt. Asparaginsäure, 0,88 pCt. d-Glutaminsäure, 5,2 pCt. l-Pyrrolidincarbonsäure, 0,4 pCt. d-Phenylalanin (jedenfalls sind die wirklichen Mengen aller dieser Stoffe erheblich grösser), ferner wahrscheinlich Aminovaleriansäure und vielleicht auch Aminobuttersäure (E. Fischer, Levene und Aders[4]). Ferner entstehen bei der hydrolytischen Spaltung (durch Schwefelsäure) 0,3 pCt. Ammoniak, 9,3 pCt. Arginin, ungefähr 5 bis 6 pCt. Lysin und wenig Histidin (Kossel und Kutscher[5]). Weder beim Kochen mit Säuren oder Alkalien, noch durch die Fäulniss entstehen Phenol, Indol oder Skatol, dagegen bildet sich bei der Fäulniss neben andern Körpern Phenyläthylamin (§ 200). Selitrenny[6]) erhielt bei der Zersetzung des Leims durch Bac. liquef. magnus Methylmercaptan, flüchtige Fettsäuren, Glykocoll, Leucin, Phenylpropionsäure, durch die Bacillen des Rauschbrandes Methylmercaptan, flüchtige Fettsäuren, Phenylpropionsäure und Phenylessigsäure. Durch Oxydation mit Kaliumpermanganat erhielt Maly[7]) neben andern Zersetzungsproducten etwas Benzoësäure. Bei dieser Oxydation wird zunächst ebenso wie aus den Eiweissstoffen eine der Oxyprotsulfonsäure (§ 317) entsprechende Substanz gebildet, die mit Aetzbaryt bis 190° längere Zeit erhitzt, Ammoniak, Pyrrol, fette Säuren, Leucin, Glutaminsäure neben Benzoësäure liefert. Zersetzungen. Oxydation.

344. Reticulin nennt Siegfried[8]) die von ihm isolirte Grundsubstanz des reticulären (adenoïden) Bindegewebes, welches in Lymphdrüsen, Darmmucosa und andern Reticulin.

---

1) Arch. f. d. ges. Physiol. **48.** 100. (1891.)
2) Journ. of Physiol. **12.** 23. (1891.) Americ. Journ. of Physiol. **2.** 176. (1899.)
3) Zeitschr. f. physiol. Chem. **34.** 119. (1902.)
4) Zeitschr. f. physiol. Chem. **35.** 70. (1902.)
5) Ebendas. **31.** 203. (1901.) Vergl. Hart, Ebendas. **33.** 358. (1901.)
6) Monatsh. f. Chem. **10.** 908. (1889.) 7) Ebendas. **10.** 26. (1889.)
8) Habilitationsschrift. Leipzig 1892.

Organen (Leber, Niere, Milz) vorkommt. Zu seiner Darstellung wird Darmschleimhaut mit Wasser, verdünnten Säuren und Natronlauge behandelt, mit Trypsin verdaut, ausgewaschen, mit Alkohol und mehrere Tage mit Aether extrahirt. Nach Wiederholung der Behandlung mit Trypsin, Alkohol und Aether bleibt das Gewebe in Form von quellbaren, hellgrauen Strähnen zurück. Kocht man jetzt mit Wasser $1/2$ Stunde, so geht ein Theil der Substanz als Leim in Lösung, während der als unlösliches Pulver zurückbleibende Rest Reticulin darstellt. C 52,88; H 6,97; N 15,63; S 1,88; P 0,34; Asche 2,27 pCt. Es ist unlöslich in verd. Mineralsäuren, in verd. Natronlauge löst es sich langsam, widersteht der Magen- und Pancreasverdauung und giebt die Xanthoproteïn-, Biuret- und Adamkiewicz'sche Probe, nicht die Millon'sche (§ 280B). Bei andauerndem Kochen mit viel Wasser löst es sich ein wenig, rascher beim Kochen mit 10 proc. Natronlauge. Bei der hydrolytischen Spaltung entstehen Ammoniak, Schwefelwasserstoff, Aminovaleriansäure, Lysin, kein Tyrosin. Vergl. übrigens Tebb[1]), der in dem reticulären Gewebe der Darmschleimhaut kein Reticulin nachweisen konnte. Er hält das Reticulin im Wesentlichen für Collagen, welches durch die Behandlung, besonders durch Alkohol und Aether eine Umwandlung erlitten hat, und sich infolgedessen schwerer in Glutin überführen lässt.

Chondrin. 345. Chondrin. Die beim Erkalten gelatinirende Substanz der beim Kochen des Knorpels mit Wasser entstehenden Knorpelleimlösung ist kein einheitlicher Körper, sondern ein Gemenge von Glutin und Verbindungen der Chondroïtinschwefelsäure mit Eiweiss und Leim. Die Reactionen, welche eine Chondrinlösung von einer Glutinlösung unterscheiden (Fällbarkeit der ersteren durch Säuren und Metallsalze, Reduction nach Kochen mit Säuren) sind bedingt durch die Anwesenheit der Chondroïtinschwefelsäure (§ 180). Ein durch Behandeln mit Alkalien von der Chondroïtinschwefelsäure befreiter Knorpel giebt, wie zuerst Morochowetz (a. a. O.) fand, beim Kochen eine typische Glutinlösung.

346. **Albumoïd der Linse** nennt C. Th. Mörner[2]) die organische Grundsubstanz der Linsenfasern, die nach völliger Entfernung der Eiweissstoffe durch verdünnte Kochsalzlösung in der unveränderten Form der Fasern zurückbleibt. In Wasser und Salzlösungen ganz unlöslich, in verd. Ammoniak und Essigsäure sehr schwer löslich, sehr leicht löslich in verd. Mineralsäuren und verdünnten Laugen und aus diesen Lösungen durch Neutralisation wieder vollkommen fällbar. Durch die Behandlung mit verd. Alkali geht es in einen albuminatähnlichen Körper über, der nun zwar in Wasser und Salzlösung unlöslich, aber in verd. Essigsäure und Ammoniak sehr leicht löslich ist. Er hat die Zusammensetzung C 53,12; H 6,80; N 16,62; 0,79 pCt. Dieselbe Zusammensetzung zeigt das Albumoïd. Millon's-, Adamkiewicz'-, Xanthoproteïn- und Schwefelbleiprobe positiv (§ 280 B).

347. **Albumoïd des Knorpels** nennt C. Th. Mörner[3]) einen im Balkennetz der Grundsubstanz abgelagerten Körper, der bei wiederholtem Auskochen des Knorpels mit Wasser bei 110 bis 120° zusammen mit den Knorpelzellen als schwammige Masse zurückbleibt. Es löst sich in Säuren und Alkalien bei Zimmertemperatur nur wenig, leicht beim Kochen, dabei in Acid- bezw. Alkalialbuminat übergehend. Magensaft löst langsam. Millon's-, Adamkiewicz'-, Xanthoproteïn- und Schwefelbleiprobe positiv (§ 280B).

348. **Thierische Membranine**[4]) bilden die Grundlage der Linsenkapselmembran und der Descemet'schen Haut und werden bei der Behandlung dieser Gebilde mit verd. Alkali und Wasser als Rückstand erhalten. Das Membranin der Linsenkapselmembran

[1]) Journ. of Physiol. **27.** 463.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **18.** 61. (1894.)
[3]) Skand. Arch. f. Physiol. **1.** 234. (1889.)
[4]) C. Th. Mörner, Zeitschr. f. physiol. Chem. **18.** 233. (1894.)

enthält N 14,10; S 0,83 pCt., das Membranin der Descemet'schen Haut N 14,77; S 0,90 pCt. Sie sind bei gewöhnlicher Temperatur in Wasser, Salzlösungen, verd. Säuren und Alkalien unlöslich, bei höheren Temperaturen (100—130°) lösen sie sich zu nicht gelatinirender Flüssigkeit. Concentrirte Säuren und Alkalien lösen schon bei Zimmertemperatur. Es bilden sich dabei keine Albuminate. Durch Trypsin- und Pepsinverdauung werden sie gelöst. Biuret-, Xanthoproteïn- und Millon's Reaction positiv (§ 280B). Nach dem Kochen mit Säuren reducirt die Flüssigkeit. Gegen alle Lösungsmittel ist das Membranin der Descemet'schen Haut sehr viel widerstandsfähiger als das andere.

349. **Conchiolin**, die organische Grundsubstanz der Schalen von Muscheln und Schnecken, wird dargestellt durch Entkalkung mit verdünnter Salzsäure und Behandlung mit 1 proc. Natronlauge, peptischer und tryptischer Verdauungsflüssigkeit, Wasser, Alkohol und Aether. Nach Krukenberg[1]) enthalten auch die Eierschalen von Murex Conchiolin. Es ist unlöslich in Wasser, Alkohol und Aether, nicht angreifbar durch Pepsin- und Trypsinverdauung, sehr widerstandsfähig gegen Natronlauge, besonders das Conchiolin aus älteren Schalen, wird aber schliesslich darin aufgelöst; in der Kälte ist es in conc. anorganischen Säuren nicht löslich, in der Wärme auch in verdünnteren. Conchiolin aus rother Steckmuschel (Pinna nobilis) hat die Zusammensetzung: C 52,87; H 6,54; N 16,6; S 0,85 (Wetzel[2]). Biuret-, Xanthoproteïn- und Millon'sche Probe positiv, Adamkiewiczsche negativ (§ 280 B). Conchiolin aus Miesmuscheln (Mytilus edulis) lieferte bei der hydrolytischen Spaltung: Ammoniak, Glykocoll, wenig Leucin, Tyrosin, durch Phosphorwolframsäure fällbare Stoffe (Wetzel).

350. **Corneïn** bildet die hornige Substanz des Achsenskeletts von Gorgoniden und Antipathiden, wird in derselben Weise wie das Conchiolin gewonnen und ist diesem sehr ähnlich. Es hat nach Krukenberg[3]) die Zusammensetzung: C 48,78; H 5,95; N 17,07 pCt., enthält ausserdem eine geringe Menge Schwefel. Schwache Millon'sche Reaction (§ 280, 10). Beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure entsteht (im Gegensatz zu Conchiolin) Cornikrystallin, ein in dachziegelförmigen Plättchen krystalli- Cornikrystallin.
sirender, sehr hygroskopischer Körper, der in conc. Schwefelsäure unlöslich ist und von derselben nicht zersetzt wird. Beim Schmelzen mit Kali entsteht Indol.

Gorgonin nennt Drechsel[4]) die Substanz des Achsenskelettes von Gorgonin.
Gorgonia Cavolinii. In dem getrockneten, aber ungereinigten Material (es liess sich weder reinigen noch pulvern) fand er neben 7,09 pCt. Asche, 7,79 pCt. Jod. Mit verdünnter Schwefelsäure gekocht löst es sich und aus

---

[1]) Ber. d. d. chem. Ges. **18**. 989. (1885.) Zeitschr. f. Biol. **22**. 241. (1886.) Vergl. auch Engel, Ebendas. **27**. 374. (1890.) u. **28**. 345. (1891.)
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **29**. 386. (1900.)
[3]) Ber. d. d. chem. Gesellsch. **17**. 1843. (1884.) Vergl. physiol. Stud. Heidelberg 1881. 5. Abthlg. S. 1.
[4]) Zeitschr. f. Biol. **33**. 90. (1890.)

der eingedampften Lösung scheiden sich Krystalle ab, die anscheinend mit dem Cornikrystallin identisch sind. Bei der Spaltung mit Salzsäure entwickeln sich Joddämpfe und es entstehen Leucin, Tyrosin, Lysin, Lysatin (?), Jodgorgosäure (§ 149) und Ammoniak, beim Kochen mit Barytwasser Jodgorgosäure. Die Achsenskelette westindischer Gorgoniaspecies enthalten sehr viel weniger Jod, auch konnte aus einer darauf untersuchten Species keine Jodgorgosäure erhalten werden (Mendel[1]).

351. **Spongin.** Die Substanz der Bade- und anderer Schwämme wird durch Extraction der fein zerkleinerten Schwämme mit verdünnter Salzsäure und Auswaschen mit Wasser gewonnen. Ein von Harnack[2]) aus Badeschwamm dargestelltes Spongin hatte die Zusammensetzung C 48,51; H 6,30; N 14,79; S 0,73; J 1,5; Asche 0,35 pCt. Hundeshagen[3]) fand in der Trockensubstanz tropischer Hornschwämme 8—14 pCt. Jod. Es wird in Alkalien viel leichter zerklüftet und gelöst als Conchiolin und Corneïn; auch kaltes Barytwasser löst es bei längerer Einwirkung. Ebenso wird es beim Erhitzen mit Wasser im zugeschmolzenen Glasrohr auf 160° gelöst. In Kupferoxydammoniaklösung schrumpft es zu zerreiblicher Masse. Biuret- und Schwefelbleiprobe positiv, Proben von Millon und Adamkiewicz negativ (§ 280 B). Unter den Producten der Säurespaltung sind aufgefunden: Glykocoll, Leucin, ungefähr 12 pCt. Glutaminsäure (Kossel und Kutscher[4]), etwas Tyrosin (Zalocostas[5]), 5—6 pCt. Arginin und 3—4 pCt. Lysin (Kossel und Kutscher).

Jodospongin. Jodospongin nennt Harnack einen Körper, den er durch achttägiges Behandeln von Spongin mit 38 proc. Schwefelsäure bei mässig warmer Temperatur, Abfiltriren der abgeschiedenen, fein vertheilten, pulverigen Masse, Lösen derselben in verdünnter Natronlauge, Wiederausfällen durch Mineralsäure und Wiederholung von Lösung und Fällung erhielt. Der feinflockige Niederschlag wird in Ammoniak gelöst, durch Eintragen von Ammonsulfat ausgesalzen und der Dialyse unterworfen. Es ist braunschwarz und hat die mittlere Zusammensetzung: C 45,01; H 5,95; N 9,62; S 6,29*); J 8,20. Es ist unlöslich in Wasser, leicht löslich in Alkalien. Biuret-, Molisch'sche und Adamkiewicz'sche Reaction negativ, Schwefelbleiprobe positiv, Millon'sche Probe unsicher (§ 280 B). Das Jod ist sehr fest gebunden, bei mehrstündigem Kochen mit verdünnter Schwefelsäure wird es sehr allmählich als Jodwasserstoff abgespalten, nicht aber durch Kochen oder Schmelzen mit Alkalien.

---

*) Ein Theil des Schwefels ist erst während der Behandlung mit Schwefelsäure eingetreten, denn ein in derselben Weise mit Salzsäure hergestelltes Präparat enthielt nur 4,7 pCt. S.

1) Americ. Journ. of Physiol. **4**. 243. (1901.)

2) Zeitschr. f. physiol. Chem. **24**. 412. (1898.)

3) Zeitschr. f. angew. Chem. 1895. S. 473.

4) Zeitschr. f. physiol. Chem. **31** 205. (1901.) 5) Compt. rend. **107**. 252. (1888.)

352. **Fibroïn**, einer der beiden Hauptbestandtheile der Seide, wird nach Cramer[1]) erhalten durch zwei- bis dreimal wiederholtes, je 3 stündiges Kochen von Seide mit der 25 fachen Menge Wasser bei 117—120° in einem Porzellangefäss. Dabei geht das Sericin (§ 353) in Lösung, während das Fibroïn als eine Substanz von der Festigkeit, aber nicht mehr von dem Glanze und der Weichheit der Seide zurückbleibt. Nach Engel[2]) besteht die organische Grundsubstanz der Brutzellendeckel der Wespen aus Fibroïn. Es löst sich in conc. Säuren und Alkalien und fällt beim Neutralisiren, allerdings verändert, wieder aus. Biuret-, Millon's, Liebermann's und Adamkiewicz' Reactionen sind positiv, letztere schwach (§ 280 B). Aus der hydrolytischen (Säure-) Zersetzungsflüssigkeit wurden von E. Fischer und Skita[3]) isolirt: Glykocoll (36 pCt.), das zuerst von Th. Weyl[4]) aufgefundene d-Alanin (21 pCt.), Serin*) (1,6 pCt.), l-Leucin (1—2 pCt.), Phenylalanin (1—2 pCt.), l-Tyrosin (10 pCt.), Arginin (1 pCt.). Die in Wirklichkeit entstandenen Mengen sind natürlich grösser. Lysin und Histidin wurden noch nicht mit Sicherheit nachgewiesen.

353. **Sericin (Seidenleim)**, der zweite Hauptbestandtheil der Seide, geht beim Auskochen von Seide mit Wasser in Lösung (siehe § 352). Die Lösung erstarrt beim Erkalten. Bei der Säurespaltung entstehen Serin, Leucin, Tyrosin (Cramer), ferner nach E. Fischer und Skita Alanin, Spuren von Glykocoll, Arginin (mindestens 4 pCt.), Lysin.

Proteïde.

354. Proteïde sind Verbindungen, welche durch einfache Spaltung mittelst Wasser, Säuren, Alkalien in Eiweissstoffe und andere, soweit bekannt, stets stickstoffhaltige Körper zerlegt werden. Man rechnet zu ihnen die Blutfarbstoffe, Nucleoproteïde, Paranucleoproteïde (Nucleoalbumine) und Glykoproteïde.

Blutfarbstoffe und ihre nächsten Derivate.

355. Die Blutfarbstoffe Hämoglobin und Oxyhämoglobin sind Verbindungen von Eiweissstoff mit den Farbstoffgruppen Hämochromogen (§ 253) bezw. Hämatin (§ 254). Oxyhämoglobin ist eine molekulare Verbindung von Hämoglobin und Sauerstoff. Sie finden sich im Proto- Vorkommen.

*) Die Isolirung des Serins geschah wie die der meisten anderen Aminosäuren als Ester nach § 156. Wird die fractionirte Destillation unter einem Druck von 8—10 mm vorgenommen, so findet sich der Serinester in der bei 90—140° übergehenden Fraction. Da er aber dabei Zersetzungen erleidet, ist es zweckmässiger, die Destillation zunächst auf dem Wasserbade bei 8—10 mm Druck vorzunehmen, die weitere Fractionirung aber bei 0,5 mm Druck auszuführen. Der Serinester geht dann unzersetzt bei einer Temperatur des Bades von 100—120° über (E. Fischer und Skita).

1) Journ. f. prakt. Chem. **96**. 76. (1865.) 2) Zeitschr. f. Biol. **27**. 374. (1890.)
3) Zeitschr. f. physiol. Chem. **33**. 177. (1901.) **35**. 221. (1902.)
4) Ber. d. d. chem. Ges. **21**. 1407. u. 1529. (1888.)

plasma der rothen Blutkörperchen der Wirbelthiere und können mehr oder weniger leicht krystallisirt erhalten werden. Im arteriellen Blut überwiegt bei Weitem das Oxyhämoglobin, im Erstickungsblut findet sich fast ausschliesslich Hämoglobin, im venösen ein Gemenge beider. Auch aus dem Blut verschiedener Avertebraten z. B. des Regenwurms sind Farbstoffe erhalten worden, welche im optischen Verhalten, in Reactionen und Zersetzungen mit dem Oxyhämoglobin übereinstimmen. Der Muskel-

Muskelfarbstoff. farbstoff steht dem Blutfarbstoff sehr nahe, wenn er auch bisher nicht krystallisirt erhalten werden konnte und im spectroskopischen Verhalten eine geringe Abweichung zeigt (K. Mörner[1]).

Darstellung. 356. **Oxyhämoglobin.** Zur Darstellung möglichst reinen Oxyhämoglobins mischt man das defibrinirte Blut mit dem zehnfach Volumen einer Chlornatriumlösung, welche auf 1 Vol. gesättigter Salzlösung 9 Vol. Wasser enthält. (Natriumsulfatlösung kann recht wohl an Stelle der Chlornatriumlösung auch bei Säugethierblut verwendet werden, bietet aber hier keine Vortheile, ist dagegen unbedingt vorzuziehen bei Vogel-, Amphibien- oder Fischblut.) Man lässt die Mischung 1 bis 2 Tage in flachen Glasschalen an einem kühlen Orte stehen oder beschleunigt den Absatz der rothen Blutkörperchen durch zwei bis dreistündiges Centrifugiren, giesst die Flüssigkeit vom dicken Blutkörperchenbrei ab, bringt letzteren mit nicht zu viel Wasser in einen Scheidetrichter, giesst fast eben so viel Aether hinzu, schüttelt gut um, jedoch nicht zu heftig, filtrirt die abgelassene dunkelrothe, wässerige Lösung schnell, lässt auf 0° abkühlen, mischt sie genau mit $^1/_4$ ihres Volumens Alkohol, der gleichfalls auf 0° erkaltet ist, und lässt die Mischung bei 0° (event. bei —2° bis —10°) einen bis mehrere Tage stehen. Meerschweinchen-, Ratten-, Eichhörnchen- und Hunde-Oxyhämoglobinkrystalle bilden sich in der Regel nach dem Schütteln der Blutkörperchen mit Aether so schnell, dass beim nachherigen Filtriren ein meist nicht geringer Theil auf dem Filter sich ausscheidet. Zeigt die mikroskopische Untersuchung, dass dies der Fall ist, so löst man sie mit nicht zuviel Wasser im Wasserbade bei 30—40°, filtrirt schnell, lässt auf 0° erkalten, fügt $^1/_4$ Vol. stark abgekühlten Alkohol hinzu und lässt unter 0° stehen. Auf diese Weise können auch die gebildeten, in der Kälte abfiltrirten und abgepressten Krystalle mehrmals umkrystallisirt werden. Die Oxyhämoglobine der eben genannten Thierarten sind in Wasser schwer löslich und krystallisiren deshalb leicht. Dasselbe gilt vom Pferdeoxyhämoglobin. Die Oxyhämoglobine vom Menschen, Rind, Schwein sind leicht löslich und deshalb schwieriger krystallinisch zu erhalten.

Für die Darstellung grosser Mengen Oxyhämoglobinkrystalle (allerdings methämoglobin- und salzhaltig) eignet sich eine von Hofmeister und seinen Schülern[2]) angegebene Methode: Blutkörperchenbrei (gewonnen durch Absetzenlassen

[1]) Nordiskt med. Ark. Festband No. 2. (1897.)

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **28.** 182. (1899.)

von Pferdeblut, das durch Zufügen von Oxalat ungerinnbar gemacht ist) wird mit dem doppelten Volumen Wasser verdünnt, abgekühlt, mit Aether (auf 1 Liter 50—70 ccm) gut durchgerührt und mit ebenfalls gekühlter, gesättigter Ammonsulfatlösung unter fortwährendem Umrühren nach und nach vermischt (auf 1 Liter 700 ccm). Der entstandene Niederschlag hebt sich allmählich, event. erst nachdem noch wenig Aether zugefügt ist. Nach einigen Stunden filtrirt man die untenstehende, dunkelrothe Flüssigkeit durch abgekühlte Papierfilter in der Kälte und lässt dann das Filtrat in Porzellanschalen bei Zimmertemperatur unter gelegentlichem Umrühren stehen. Nach 3 Tagen ist die Krystallisation beendet, die Krystalle werden abgesaugt, zur Reinigung in möglichst wenig Wasser gelöst und wieder mit gesättigter Ammonsulfatlösung (80 auf 100 ccm) versetzt.

357. Die Krystalle der Oxyhämoglobine sind oft nur mikroskopisch nachweisbar, meist mit der Loupe gut erkennbar, selten über 5 mm lang. Die Krystalle des Meerschweinchen- und des Rattenbluts sind Tetraëder und Octaëder, die des Eichhörnchenbluts sechsseitige Tafeln, die des Hunde- und des Pferdeblutes meist lange vierseitige Prismen, die des Gänseblutes dünne rhombische Tafeln. Sie enthalten alle Krystallwasser in verschiedener Menge, dessen Bestimmung Schwierigkeiten bietet. Unter 0° im Vacuum völlig getrocknete Krystalle können auf 100° und höher ohne Zersetzung erhitzt werden; sehr geringe Menge von Wasser dagegen bedingt allmähliche Zersetzung schon bei gewöhnlicher, schneller bei höherer Temperatur. So lange die Krystalle die schöne hellarterielle Farbe besitzen, sind sie unzersetzt. Krystalle.

Die Analysen haben z. Th. gut übereinstimmende, z. Th. sehr abweichende Resultate ergeben, aus denen ersichtlich ist, dass verschieden behandelte Stoffe analysirt sind. Zusammensetzung.

	C	H	N	S	O	Fe		
Hundeblutkrystalle . . .	53,85	7,32	16,17	0,39	21,44	0,43	pCt.	Hoppe-Seyler[1])
„ . . .	54,57	7,22	16,38	0,57	20,93	0,34	„	Jaquet[2])
Pferdeblutkrystalle . . .	54,87	6,97	17,31	0,65	19,73	0,47	„	Hoppe-Seyler u. Kossel[3])
„ . . .				0,44		0,39	„	Hoppe-Seyler
„ . . .	54,56	7,15	17,33	0,43			„	Schulz[4])
„ . . .	54,76	7,03	17,28	0,67	19,81	0,45	„	Otto[5])
„ . . .	54,40	7,20	17,61	0,65	19,67	0,47	„	Bücheler[6])
„ . . .	51,15	6,76	17,94	0,39	23,43	0,34	„	Zinoffsky[7])
Rinderblutkrystalle . . .	54,66	7,25	17,70	0,45	19,54	0,40	„	Hüfner[6])
Meerschweinchenblutkryst.	54,12	7,36	16,78	0,58	20,68	0,48	„	Hoppe-Seyler[1])
Eichhörnchenblutkrystalle	54,09	7,39	16,09	0,40	21,44	0,59	„	Hoppe-Seyler[1])
Schweineblutkrystalle . .	54,17	7,38	16,23	0,66	21,36	0,43	„	Otto[5])
„ . .	54,71	7,38	17,43	0,48	19,60	0,40	„	Hüfner[6])
Gänseblutkrystalle*) . .	54,26	7,10	16,21	0,54	20,69	0,43	„	Hoppe-Seyler[1])
Hühnerblutkrystalle*) . .	52,47	7,19	16,45	0,86	22,50	0,335	„	Jaquet[2])

*) In Gänseblutkrystallen wurden 0,335 pCt., in Hühnerblutkrystallen 0,197 pCt. P gefunden. Derselbe rührt von einem Gehalt an Nucleïnsäure her. Inoko, Zeitschr. f. physiol. Chem. 18. 57. (1894.)

1) Hoppe-Seyler, Med. chem. Unters. Heft 3. S. 370. (1868.)

2) Zeitschr. f. physiol. Chem. 14. 289. (1890.)

3) Ebendas. 2. 149. (1879.) 4) Ebendas. 24. 469. (1898.)

5) Ebendas. 7. 61. (1883.) 6) Hüfner, Gratulationsschrift an C. Ludwig 1886.

7) Zeitschr. f. physiol. Chem. 10. 16. (1886.)

Osborne[1]) fand in Hundeblutkrystallen 0,583 pCt. Gesammtschwefel und 0,335 pCt. locker gebundenen Schwefel. Aus den besten Analysen des Pferde- und Rinderblutoxyhämoglobins ergiebt sich, dass auf 1 At. Eisen 2 At. Schwefel kommen. Nach den letzten Untersuchungen von Hüfner[2]) enthält das Rinderoxyhämoglobin 0,336 pCt. Fe. 1 g Hämoglobin vermag nach Hüfner 1,34 ccm Sauerstoff (bei 0° und 760 mm Druck) zu binden. Diese Bindung des Sauerstoffs im Oxyhämoglobin ist eine lockere, dissociable. In Wasser gelöstes Oxyhämoglobin giebt im Vacuum, beim Durchleiten indifferenter Gase z. B. Wasserstoff, bei Einwirkung von reducirenden Substanzen z. B. Schwefelammonium oder Stokes'scher Lösung (Anh.) den Sauerstoff ab und geht in Hämoglobin (§ 358) über.

Eigenschaften. Die Oxyhämoglobinkrystalle sind in Wasser mit feurig blutrother Farbe löslich, aber die Krystalle verschiedener Thierarten verschieden leicht (siehe oben); in Alkohol, Aether, Benzol, Chloroform sind sie unlöslich, in sehr verdünntem Alkohol etwas löslich und diese Lösung ist bei niedriger Temperatur auch ziemlich beständig. Eine verdünnte wässrige Lösung von Oxyhämoglobin ist haltbarer als eine concentrirte und eine mit ein wenig Alkalicarbonat versetzte bei gewöhnlicher Temperatur haltbarer als eine neutrale. Neutrales und basisches Bleiacetat fällen eine wässrige Lösung nicht, auch nicht auf Zusatz von Ammoniak, auch salpetersaures Silber fällt nicht, aber beim Stehen finden bald Zersetzungen statt und die Zersetzungsproducte veranlassen dann Fällungen. Eintragen von pulverigem Kaliumcarbonat in concentrirte wässrige Lösungen fällt Oxyhämoglobin u. z. bei niedriger Temperatur zunächst ohne Veränderungen, desgleichen Eintragen von Ammonsulfat bis zur Sättigung. Auch Alkohol fällt Oxyhämoglobin aus seinen Lösungen. Der zuerst entstehende rothe Niederschlag ist in Wasser z. Th. sofort wieder löslich; allmählich (schneller beim Erhitzen) geht die Farbe des Niederschlags in braun über und jetzt ist die Spaltung in Eiweissstoff und Hämatin geschehen. Ueber weitere Fällungsmittel, die aber gleichzeitig eine Zersetzung des Blutfarbstoffes bewirken, siehe weiter unten. Ueber das spectroskopische Verhalten der Oxyhämoglobine siehe § 359.

Zersetzungen. Wird eine Oxyhämoglobinlösung einige Zeit über 80° erhitzt, so entsteht zunächst Methämoglobin, dann erfolgt Spaltung unter Wasseraufnahme in Hämatin und sich abscheidenden Eiweissstoff. Die gleiche Spaltung bewirken Alkalien und besonders schnell Säuren u. z. erfolgt dieselbe um so schneller 1. je concentrirter die Säure oder die Alkalilösung ist, 2. je mehr davon zugesetzt ist, 3. je concentrirter die Oxyhämoglobinlösung und 4. je höher die Temperatur ist. Dabei bildet sich nur dann ein Niederschlag, wenn der entstehende Eiweissstoff in der Flüssigkeit unlöslich ist. So tritt

---

1) Stud. f. the Res. Lab. Connecticut Agr. Exp. Stat. Rep. f. 1900. p. 460.
2) Arch. f. Anat. u. Physiol. Physiol. Abthlg. 1894. S. 130.

diese Zersetzung ohne Niederschlag ein bei Einwirkung von Essigsäure, Weinsäure, Kalilauge u. s. w., dagegen mit Bildung von Niederschlag, wenn hinreichend Salpetersäure oder Schwefelsäure zugesetzt wurde. Löst man Oxyhämoglobin unter Zusatz einer Spur Kochsalz in Eisessig und erhitzt, so fällt allein Hämin (§ 255) in meist mikroskopischen Krystallen aus. Schon die schwächsten Säuren, auch Kohlensäure, zeigen baldige Einwirkung, indem sie zunächst zur Bildung von Acidhämoglobin (§ 365) führen, dann weiter zersetzen. Durch Ammoniak wird Oxyhämoglobinlösung nur sehr langsam gespalten. Bei allen diesen Spaltungen entstehen neben Hämatin und Eiweissstoff (hauptsächlich Globin § 324) noch geringe Mengen von Ameisensäure, Buttersäure und vielleicht auch anderen Säuren. Phosphorwolframsäure, Gerbsäure, Kaliumquecksilberjodid, Ferrocyankalium fällen Blutfarbstoffe in saurer Lösung unter gleichzeitiger Zersetzung, desgleichen alle diejenigen Salze, besonders schwerer Metalle, welche unter Bildung basischer Verbindungen leicht Säure abgeben. Durch Pancreasverdauung entstehen aus Oxyhämoglobin Hämatin und weitere Spaltungsproducte der Eiweisstoffe, durch Fäulniss Methämoglobin und weiter Hämoglobin.

Ueber Verbindungen, welche durch Einwirkung von Kohlenoxyd, Blausäure, Schwefelwasserstoff u. s. w. auf Oxyhämoglobin entstehen, sowie über andere Derivate siehe die §§ 360—367.

358. **Hämoglobin** unterscheidet sich von dem Oxyhämoglobin durch das Fehlen des locker gebundenen Sauerstoffs. Es entsteht, wie S. 350 erwähnt, wenn man durch eine Oxyhämoglobinlösung (oder Blut) indifferente Gase leitet, wenn man sie in das Vacuum bringt, reducirende Stoffe z. B. Schwefelammonium oder Stokes'sche Lösung auf sie einwirken oder sie faulen lässt. (Beim Schütteln einer so hergestellten Hämoglobinlösung mit Luft findet alsbald eine Rückverwandlung in Oxyhämoglobin statt.) Ueberlässt man Blut oder eine genügend concentrirte Oxyhämoglobinlösung, in Glasröhren eingeschmolzen, der Fäulniss, so scheidet sich allmälich Hämoglobin in Krystallen ab (Hüfner[1]). Ueber die Gewinnung von Hämoglobinkrystallen siehe auch Nencki und Sieber[2]). Darstellung.

Die Krystalle sind prachtvoll dunkelroth, im Allgemeinen den Oxyhämoglobinkrystallen isomorph, aber leichter löslich in Wasser. An die Luft gebracht wandeln sie sich unter Sauerstoffaufnahme alsbald in kleine Oxyhämoglobinkrystalle von arterieller Färbung um. Eine Lösung von Hämoglobin ist dunkler roth als eine gleich concentrirte Oxyhämoglobinlösung. Sie wird ebenso wie eine Oxyhämoglobinlösung weder durch neutrales noch durch basisches Bleiacetat, auch nicht nach Zufügen von Ammoniak gefällt, wenn die Reagentien vorsichtig und unter Vermeidung eines Ueberschusses zugefügt werden. Eigenschaften.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **4**. 382. (1880.)

[2]) Ber. d. d. chem. Ges. **19**. 128 u. 410. (1886.)

Zersetzungen. Von locker gebundenem Sauerstoff vollständig befreites Hämoglobin wird in wässeriger Lösung bei völliger Abwesenheit von Sauerstoff durch alkoholische oder wässerige Lösungen von Säuren oder Alkalien unter Auftreten purpurrother Farbe gespalten in Eiweissstoff und Hämochromogen (§ 253), welches in sauren Lösungen leicht seinen Eisengehalt verliert und in Hämatoporphyrin (§ 256) übergeht. Das Hämoglobin widersteht im Gegensatz zu Oxyhämoglobin der Fäulniss und Pankreasverdauung, auch bei jahrelanger Einwirkung.

359. **Spectroskopisches Verhalten von Oxyhämoglobin und Hämoglobin.** Die Oxyhämoglobinlösungen absorbiren am Wenigsten das Licht vom Anfang des Spectrums im Roth bis nahe zur Linie D; das letzte Viertel des Zwischenraumes zwischen C und D, welches an D angrenzt, wird schon stärker absorbirt. Wandelt man eine Oxyhämoglobinlösung in eine Hämoglobinlösung um (siehe oben), so wird das Licht zwischen C und D viel stärker absorbirt und hiermit die Lösung sehr viel dunkler im durchfallenden Licht.

Verdünnt man eine concentrirte Oxyhämoglobinlösung in einem Gefäss mit planparellen Glasseitenwandungen, so zeigt dieselbe, immer in gleicher Dicke der Schicht untersucht, schnelle Aufhellung bis zur Linie D, bald tritt bei weiterer Verdünnung Licht zwischen den Linien E und F im Grün auf; dann breitet sich in der noch mehr verdünnten Flüssigkeit das Spectrum über die Linie F ins Blau hinein aus, während zugleich, etwa in der Mitte zwischen D und E ein hellgrüner Lichtstreif erscheint, eingeschlossen von zwei sehr starken und beständigen Absorptionsstreifen. Bei noch weiter fortgesetztem Verdünnen entwickelt sich das Spectrum vollständig bis zum Violett, nur die beiden in der Spectraltafel dargestellten Absorptionsstreifen (Oxyhämoglobinstreifen) bleiben noch, langsam schwächer werdend, beim Verdünnen bis zum Gehalte von 1 g Oxyhämoglobin in 10 Liter Lösung deutlich sichtbar, wenn man diese Lösung in einer Flüssigkeitsschicht von 1 cm Dicke im Spectralapparate mit zerstreutem Tageslichte beobachtet. Der näher an der Linie D liegende Streifen ist schmäler, dunkler und schärfer begrenzt als der andere bei E gelegene und verschwindet schliesslich bei fortgesetzter Verdünnung ein wenig später als der andere. Die Mitte des ersten Streifens entspricht einer Wellenlänge von 578,1, die des zweiten einer solchen von 541,7 (Formánek[1]).

Spectrum des Oxyhämoglobins.

Lässt man eine passend verdünnte Blut- oder Oxyhämoglobinlösung verschlossen einige Zeit stehen, oder fügt man einige Tropfen Schwefelammonium oder Stokes'sche Flüssigkeit hinzu, so geht alsbald die helle arterielle Färbung in eine dunkle und venöse über. Bei der Spectralprüfung ist der helle Zwischenraum zwischen den beschriebenen zwei Ab-

[1]) Zeitschr. f. analyt. Chem. **40**. 505. (1901.)

sorptionsstreifen verschwunden, die Streifen selbst werden blasser und an der Stelle des früheren hellen Zwischenraums zwischen beiden, zwischen D und E und etwas über D hinüberreichend bleibt ein dunkler Absorptionsstreifen (Hämoglobinstreifen), dessen dunkelste Stelle nach Fornánek einer Wellenlänge von 555 entspricht (Spectraltafel). Er hat weniger scharf begrenzte Ränder und verschwindet beim Verdünnen der Lösung früher, als bei gleicher Verdünnung der Oxyhämoglobinlösung die beiden Absorptionsstreifen derselben unerkennbar werden. Schüttelt man eine Hämoglobinlösung nur ein paar Secunden mit etwas Luft, so sind sogleich die beiden Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobins zu sehen und die Lösung ist wieder heller roth; das Hämoglobinspectrum tritt unter Verdunkelung bald wieder ein, wenn noch reducirende Stoffe sich in der Lösung befinden oder Fäulniss einwirkt. Spectrum des Hämoglobins.

Ueber die Absorptionserscheinungen, welche die Blutfarbstoffe im violetten und ultravioletten Theil des Spectrums hervorrufen, siehe bei Gamgee[1]).

Zur Trennung des Oxyhämoglobins und Hämoglobins von Methämoglobin, Hämatin, Hämatoporphyrin kann das Verhalten gegen neutrales und basisches Bleiacetat benutzt werden, durch welche die drei zuletzt genannten Stoffe und zahlreiche andere gefärbte Substanzen gefällt werden. Zum Nachweis selbst kleiner Mengen eignen sich vor Allem die eigenthümlichen Absorptionserscheinungen ihrer Lösungen und die characteristischen Veränderungen, welche dieselben unter der Einwirkung bestimmter Reagentien erleiden. In letzterer Beziehung kommen besonders in Betracht die Umwandlung des Oxyhämoglobins durch Reductionsmittel in Hämoglobin und Rückbildung des letzteren in Oxyhämoglobin durch Luft, die Ueberführung in Kohlenoxydhämoglobin (§ 360), welches durch Schwefelammonium nicht verändert wird, sowie die Umwandlung in Hämochromogen durch Erhitzen mit Natronlauge und Versetzen der alkalischen Lösung mit Schwefelammonium oder einem anderen geeigneten Reductionsmittel. Trennung und Nachweis.

360. **Kohlenoxydhämoglobin** ist eine von Hoppe-Seyler[2]) zuerst beschriebene, molekulare Verbindung von Hämoglobin und Kohlenoxyd, welche beim Durchleiten dieses Gases durch Blut oder eine wässrige Lösung von Hämoglobin oder Oxyhämoglobin entsteht und sich im Blut mit Kohlenoxyd vergifteter Personen (Leuchtgas-, Kohlendunstvergiftung) findet. Bildung.

Zur Darstellung in Krystallen leitet man durch eine genügend concentrirte Oxyhämoglobinlösung Kohlenoxyd und behandelt diese Lösung ebenso, wie es im § 356 für die Gewinnung der Oxyhämoglobinkrystalle angegeben Darstellung.

---

1) Zeitschr. f. Biol. **34.** 505. (1896.)

2) Arch. f. pathol. Anat. **11.** 288. (1857.)
Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1864—1865.
Med. chem. Untersuchungen. Heft 2. (1867.) Heft 3. (1868.)
Zeitschr. f. physiol. Chem. **1.** 131. (1878.) u. **13.** 477. (1889.)

ist. Die sich ausscheidenden Krystalle sind den entsprechenden Oxyhämoglobinkrystallen isomorph.

Spectrum. Ihre wässrigen Lösungen, ebenso mit Kohlenoxyd behandeltes Blut, haben keine scharlachrothe, sondern eine mehr dem Carmin entsprechende Farbe, absorbiren das blaue Licht weniger als die Oxyhämoglobinlösungen und zeigen bei genügender Verdünnung spectroskopisch untersucht 2 Absorptionsstreifen (Spectraltafel) zwischen den Linien D und E wie Oxyhämoglobinlösungen, jedoch ein wenig von D nach E hin verschoben, so dass der helle Raum, welcher die Linie D vom ersten Streifen trennt, etwas breiter ist, als bei den Oxyhämoglobinlösungen. Die Mitte des ersten Streifens entspricht einer Wellenlänge von 572, die des zweiten einer solchen von 536.

Eigenschaften. Die Verbindung widersteht (im Gegensatz zum Oxyhämoglobin) reducirenden Stoffen. Durch das Vacuum, ebenso durch längeres Einleiten von Wasserstoff- oder Stickstoffgas, noch schneller durch Einleiten von Sauerstoff- und Stickoxydgas wird das Kohlenoxyd ausgetrieben und entweder Hämoglobin oder Oxy- oder Stickoxydhämoglobin gebildet. Auch beim Stehen von Kohlenoxydhämoglobinlösungen an der Luft geht allmählich eine Umwandlung in Oxyhämoglobin und weiter in Methämoglobin vor sich.

Zersetzungen. Erhitzt man eine wässrige neutrale Lösung zum Sieden, so entsteht ein hellrothes (Unterschied vom Oxyhämoglobin) Coagulum, das aus Eiweisstoff und Kohlenoxydhämochromogen (§ 253) besteht und sich an der Luft erst allmählich unter Abspaltung des Kohlenoxyds und Bildung von Hämatin dunkler färbt. Durch starke Natronlauge wird eine wässrige Lösung oder mit Kohlenoxyd gesättigtes Blut (im Gegensatz zu normalem Blut) hellroth gefällt (Hoppe-Seyler's Probe). Der Niederschlag, welcher aus Kohlenoxydhämoglobin besteht, zersetzt sich zu Kohlenoxydhämochromogen und Eiweissstoff und wird an der Luft allmählich braun unter Bildung von Hämatin.

Verhalten gegen Fäulniss. Gegen Fäulniss bei Abwesenheit von freiem Sauerstoff und ebenso gegen Pancreasverdauung ist die Verbindung völlig widerstandsfähig. Wässrige Lösungen oder Kohlenoxydblut aus Leichen von mit Kohlenoxyd vergifteten Personen, in Glasröhren eingeschmolzen, zeigen noch nach vielen Jahren trotz eingetretener Fäulniss das unveränderte Spectrum und liefern beim Evacuiren Kohlenoxyd.

Nachweis. Zur Unterscheidung einer Kohlenoxydhämoglobinlösung von einer Oxyhämoglobinlösung dienen besonders die Unveränderlichkeit des Spectrums auf Zusatz von Reductionsmitteln, ferner der hellrothe Niederschlag, welcher beim Kochen und auf Zusatz von starker Natronlauge entsteht.

361. **Stickoxydhämoglobin**, eine molekulare Verbindung von Hämoglobin und Stickoxyd, entsteht beim Einleiten von diesem Gase in eine Lösung von Kohlenoxydhämoglobinkrystallen und lässt sich in der beim Oxyhämoglobin beschriebenen Weise (§ 356) krystallinisch erhalten. Ueber seine Entstehung aus Methämoglobin siehe § 363.

Die Krystalle sind denen des Oxyhämoglobins isomorph und zeigen auch genau die gleiche Färbung. Bei der spectroskopischen Prüfung ihrer Lösungen erkennt man 2 Streifen, die in Lage und Aussehen mit den Oxyhämoglobinstreifen völlig übereinstimmen. Die Verbindung wird durch Reductionsmittel nicht zerlegt.

362. Acetylenhämoglobin, von Bistrow und Liebreich durch Einwirkung von Acetylen auf Hämoglobinlösung erhalten, ist wenig beständig.

363. **Methämoglobin** wurde von Hoppe-Seyler[1]) entdeckt. Es entsteht aus Oxyhämoglobin durch Einwirkung verschiedener Stoffe*) (oxydirender, reducirender und auch indifferenter z. B. neutraler Salze) auf Oxyhämoglobinlösungen oder Blut. Methämoglobinbildend wirken besonders Ferricyankalium, Nitrite, Permanganat, Chlorate, Ozon, Wasserstoff im Entstehungszustande bei Gegenwart von freiem Sauerstoff, Wasserstoffhyperoxyd. Ferner entsteht es durch Einwirkung von Wärme allein auf Oxyhämoglobinlösungen sowie beim Eintrocknen dieser Lösungen oder von Blut an der Luft. Im Organismus findet es sich normalerweise nicht, wohl aber in Extravasaten, in Struma- und andern Cysten, ferner im Blut, in den Nieren und im Harne nach Einbringung von Amylnitrit, Pyrogallol, gallensauren Salzen und vielen andern Stoffen in den Blutstrom, nach Zerstörungen von Blutkörperchen bei Hautverbrennungen u. s. w. Bildung und Vorkommen.

Wie Haldane[2]), Hüfner[3]) und v. Zeynek[4]) fanden, wird beim Versetzen einer Oxyhämoglobinlösung mit Ferricyankalium die ganze Menge des locker gebundenen Sauerstoffs abgespalten und Ferricyankalium zu Ferrocyankalium reducirt. Die gleichzeitig vor sich gehende Umwandlung von Oxyhämoglobin in Methämoglobin kommt nun nach ihrer Ansicht wahrscheinlich so zu Stande, dass an Stelle des locker gebundenen Sauerstoffs Sauerstoff oder Hydroxylgruppen, welche bei der Reduction des Ferricyankaliums frei werden, in das Hämoglobinmolekül eintreten und hier eine festere Bindung erfahren. Die Umwandlung des Oxyhämoglobins in Methämoglobin durch Kaliumpermanganat erfolgt gleichfalls unter Sauerstoffentwicklung.

Um es krystallinisch zu erhalten, versetzt man eine möglichst concentrirte Oxyhämoglobinlösung (aus Schweine-, Pferde- oder Hundeblut) mit 10 proc. Ferricyankaliumlösung bis zur tiefen Braunfärbung, kühlt auf 0° ab und versetzt mit dem 4. Theil ebenso weit abgekühlten Alkohols. Beim Stehen in einer Kältemischung scheiden sich innerhalb einiger Tage rehbraune Krystalle, meist feine Nadeln, ab (Hüfner u. Otto[5]). Aus Rinderblut wurde es bisher nicht krystallinisch erhalten. Darstellung.

Das Methämoglobin hat dieselbe Zusammensetzung wie das Oxyhämoglobin (Hüfner und Otto, Otto[6]). Der molekulare Sauerstoff des letz- Zusammensetzung.

*) Eine Zusammenstellung zahlreicher methämoglobinbildender Stoffe siehe bei Dittrich, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **29.** 247. (1892.)

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **2.** 150. (1878—1879.) u. **6.** 166. (1882.) Araki, Ebendas. **14.** 405. (1890.) Jaederholm, Zeitschr. f. Biol. **16.** 1. (1880.) u. **20.** 419. (1884.)

2) Journ. of Phys. **22.** 298. (1898.)

3) Arch. f. Physiol. Physiol.-Abthlg. 1899. S. 491. 4) Ebendas. S. 460.

5) Zeitschr. f. physiol. Chem. **7.** 65. (1882—1883.)

6) Arch. f. d. ges. Phys. **31.** 245. (1883.)

teren ist aber im Methämoglobin fester gebunden und weder durch das Vacuum noch beim Durchleiten von indifferenten Gasen oder Kohlenoxyd durch eine wässrige Lösung austreibbar, wohl aber durch Stickoxyd, indem beim Schütteln einer Methämoglobinlösung mit Stickoxyd bei Gegenwart von Harnstoff Stickoxydhämoglobin (§ 361) entsteht (Hüfner und Külz[1]).

Eigenschaften. Die Krystalle sind in Wasser leicht löslich. Die sauren und neutralen Lösungen sind braun, die alkalischen roth. Durch vorsichtigen Zusatz von Bleiacetat und Bleiessig werden Methämoglobinlösungen gefällt (Unterschied von Oxyhämoglobin- und Hämoglobinlösungen).

Spectrum. Lösungen, welche nicht stark alkalisch, sondern neutral oder schwach sauer sind oder wenig Alkalicarbonat enthalten, ebenso mit Wasser verdünntes Blut, dem einige Tropfen einer frisch hergestellten conc. Ferricyankaliumlösung zugefügt sind, zeigen bei der spectroskopischen Untersuchung einen Absorptionsstreifen im Roth, welcher zwischen den Linien C und D (Spectraltafel) näher an C liegt und dessen Mitte etwa einer Wellenlänge 634 entspricht. Neben diesem charakteristischen Streifen beobachtet man noch drei andere Streifen, von denen zwei mit den Oxyhämoglobinstreifen übereinstimmen. Bei genügend zugesetztem Ferricyankalium verblassen sie nach einiger Zeit fast ganz, während der Streifen im Roth unverändert bleibt. Bei etwas stärkerem Zusatz von Alkali aber verschwindet der Streifen im Roth sofort und die Absorptionsstreifen im Grünen treten wieder deutlich hervor, wenn sie in der sauren oder alkalischen Lösung nicht bereits allzu sehr verblasst waren.

Umwandlung in Hämoglobin. Durch Einwirkung reducirender Substanzen in schwach-alkalischer Lösung, ebenso durch Fäulniss bei Abwesenheit von freiem Sauerstoff wird Methämoglobin in Hämoglobin und durch Schütteln mit Luft dieses in Oxyhämoglobin übergeführt. Diese Umwandlungen, welche sich sehr leicht mit Hülfe des Spectroskops verfolgen lassen, unterscheiden das Methämoglobin vom Hämatin, dessen saure Lösungen einen ähnlichen Absorptionsstreifen zeigen; letzteres wird durch dieselben reducirenden Substanzen (z. B. Schwefelammonium), welche aus dem Methämoglobin Hämoglobin bilden, in Hämochromogen übergeführt. Schwache Säuren und Alkalien spalten Methämoglobin in Hämatin und Eiweissstoff.

Nachweis. Zum Nachweis dient das spectroskopische Verhalten, sowie das Verhalten zu Reductionsmitteln.

Bildung. 364. **Cyanhämoglobin.** Dieser schon seit längerer Zeit (Preyer, Hoppe-Seyler) bekannte, aber erst von Kobert[2]) genauer beschriebene und als Cyanmethämoglobin bezeichnete Farbstoff, ist von v. Zeynek[3])

---

[1]) Zeitschr. für physiol. Chem. **7**. 366. (1882—1883.)

[2]) Ueber Cyanmethämoglobin und den Nachweis der Blausäure. Stuttgart, Enke 1891. Arch. f. d. ges. Physiol. **82**. 603. (1900.)

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **33**. 426. (1901.)

krystallisirt erhalten und eingehend untersucht worden. Bei seiner Bildung findet eine Aufnahme von einer Cyangruppe bezw. eines Mol. Blausäure in ein Mol. Blutfarbstoff statt. Das Cyanhämoglobin ist, wie zuerst Haldane[1]) fand, identisch mit dem Photomethämoglobin von Boek.

Es entsteht sofort beim Zusammenbringen einer Methämoglobinlösung (aus Pferdeblut) mit 0,5 proc. Blausäurelösung unter Umschlagen der rehbraunen in eine rothe Farbe und scheidet sich aus einer stark abgekühlten etwa 25—30 pCt. Farbstoff enthaltenden Lösung auf Zusatz von $^1/_4$ Vol. auf 0° abgekühlten Alkohols bei —10° in 1—2 Tagen krystallinisch ab. Bequemer erhält man es durch mehrstündige Einwirkung von 0,5 proc. Blausäurelösung auf Oxyhämoglobinlösung bei Körpertemperatur (nicht in der Kälte). Mit Hämoglobin reagirt Blausäure nicht, beim Einleiten von Cyangas in eine Hämoglobinlösung entsteht allmählich Cyanhämoglobin, aber nicht durch Einwirkung von Cyangas auf Kohlenoxyd- oder Stickoxydhämoglobinlösung. Darstellung.

Das aus Methämoglobin dargestellte Cyanhämoglobin krystallisirte in manchen Fällen in langen, hygroskopischen Prismen mit ungefähr 5,7 pCt. Krystallwasser, in andern Fällen in weniger hygroskopischen Rhomben mit ungefähr 10,4 pCt. Krystallwasser. Sie enthalten 0,158 pCt. Cyan. Die Krystalle sind in Wasser leicht löslich mit rother, einen Stich ins Gelbliche zeigender Farbe. Eigenschaften.

Neutrale und ebenso schwach alkalische Lösungen zeigen übereinstimmend einen breiten Streifen im Grün, ähnlich dem Hämoglobinspectrum, aber etwas nach Violett verschoben. Schütteln mit Luft ändert das Spectrum nicht. Spectrum.

Beim Erwärmen im Vacuum auf 40°, ebenso beim Durchleiten indifferenter Gase wird keine Blausäure abgegeben, wohl aber beim Kochen unter gewöhnlichem Druck. Schwefelammonium bewirkt keine Veränderung. Beim Einleiten von Schwefelwasserstoff in eine vollkommen sauerstofffreie Lösung von Cyanhämoglobin findet eine Umwandlung in Hämoglobin statt. Mineralsäuren bewirken Zersetzung unter Braunfärbung. Umwandlungen.

365. **Acidhämoglobin.** Dieser aus Blutfarbstoff durch Einwirkung ganz schwacher Säuren, auch durch Kohlensäure, entstehende Körper wurde früher für identisch mit Methämoglobin gehalten, ist aber nach Harnack[2]) von diesem zu unterscheiden. Seine Lösungen zeigen dieselbe braune Farbe, wie die Methämoglobinlösungen und auch einen Streifen im Roth, der aber mehr rothwärts verschoben ist. Durch weitere Säurewirkung wird es leicht in Hämatin und Eiweiss gespalten. Isolirung und nähere Untersuchung stehen noch aus.

366. **Kathämoglobin** nennt van Klaveren[3]) einen Körper, der aus Hämoglobin und Methämoglobin durch Abspaltung eines organischen, wasserlöslichen, diffusionsfähigen, eisenhaltigen Komplexes entsteht, sich aber von jenen Körpern, abgesehen von einem geringeren Eisengehalt, in der Zusammensetzung kaum unterscheidet. Man erhält ihn durch

[1]) Journ. of Physiol. **25**. 230. (1900.)
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **26**. 558. (1899.) [3]) Ebendas. **33**. 293. (1901.)

Versetzen von 100 ccm einer möglichst concentrirten Blutfarbstofflösung mit 200 ccm 96 proc. Alkohols und 1—2 ccm gesättigter Kalilauge, Erhitzen auf 60°, sofortiges Neutralisiren mit Salzsäure, Abkühlen und starkes Verdünnen mit destillirtem Wasser als Niederschlag, der durch Waschen mit Wasser, Lösen in 60 proc. Alkohol unter Zusatz von Kochsalz bei 60° und Wiederfällen mit Wasser gereinigt werden kann. Man erhält ihn ferner durch Schütteln einer Methämoglobinlösung mit dem gleichen Vol. Alkohol als Niederschlag, der in der angegebenen Weise gereinigt wird.

Eigenschaften. Es ist in Wasser und Alkohol unlöslich, löslich in kochsalzhaltigem Alkohol, besonders beim Erwärmen, mit schön rother Farbe. Diese Lösung zeigt 2 Streifen zwischen D und b, einen schmäleren und schwächeren nach D zu und einen breiteren stärkeren, der bis zur Linie b reicht. Beim Erhitzen wird die Farbe braun und das Spectrum des alkalischen Hämatins tritt auf, beim Abkühlen kehrt die rothe Farbe und das ursprüngliche Spectrum zurück. Auf Zusatz von Alkali erscheint der Streifen des Hämatins und fügt man nun Stokes'sche Lösung (Anh.) hinzu, so sieht man die beiden Streifen des Hämochromogens.

Arnold[1]) der diesen Körper zuerst beschrieben hat, hielt ihn für Hämatin und nannte ihn neutrales Hämatin; er enthält aber Eiweiss, ist also noch ein Proteïd, aus dem erst durch stärkeres oder längeres Erwärmen mit alkoholischer Kalilauge Hämatin abgespalten wird.

Sulfhämoglobin. 367. **Sulfhämoglobin, Schwefelmethämoglobin.** Sulfhämoglobin entsteht nach Harnack (a. a. O.) beim Durchleiten von Schwefelwasserstoff durch sauerstofffreie Lösungen von Hämoglobin und Kohlenoxydhämoglobin, nicht aber nachdem die Lösung vorher etwas stärker alkalisch gemacht oder angesäuert oder nachdem ein Kohlensäurestrom durch sie gegangen ist. Spectrum. Die Lösungen sind dunkelroth und zeigen einen Streifen im Roth zwischen C und D, näher an C. Durch verdünnte Säuren wird es in Schwefelwasserstoff und Acidhämoglobin gespalten. Das Sulfhämoglobin wurde noch nicht isolirt.

Schwefelmethämoglobin. Beim gleichzeitigen Durchleiten von Schwefelwasserstoff und Sauerstoff (oder Luft) durch Blut oder beim Durchleiten von Schwefelwasserstoff allein durch neutrale Oxyhämoglobinlösungen tritt eine starke Aenderung der Färbung (grün in dünneren, roth in dickeren Schichten) ein (Hoppe-Seyler und Araki[2]). (Nach Harnack entsteht hierbei zunächst auch Sulfhämoglobin, dann alsbald tiefgreifende Zersetzung). Hoppe-Seyler nennt den hierbei sich bildenden Farbstoff Schwefelmethämoglobin. Derselbe bedingt die grüne oberflächliche Färbung faulender blutiger Organe (Bauchdecken der Leichen u. s. w.)

Spectrum. Er ist ausgezeichnet durch 2 Absorptionsstreifen im Roth, die bei der spectroskopischen Prüfung ins Auge fallen. Der eine beginnt noch ein wenig vor der Linie C, fasst dieselbe in seinen Rand ein, der andere nimmt ungefähr die Mitte zwischen C und D ein; zwischen beiden Streifen ist aber kein helles Licht zu sehen, sondern eine Beschattung, welche beide dunklere Streifen mit einander verbindet. Zwischen D und E sind auch nach sehr anhaltender Behandlung mit Schwefelwasserstoff und Luft noch die beiden Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobins (§ 359) zu sehen. Lässt man starke Natronlauge auf Schwefelmethämoglobin bei gewöhnlicher Temperatur einwirken, so verschwindet der Streifen an der Linie C nicht, wohl aber der Streifen mitten zwischen C und D. Erhitzt man die Lösung dann unter Zusatz von etwas Schwefelammonium, so verschwinden alle Absorptionsstreifen im Roth und es sind allein die schönen Absorptionsstreifen des Hämochromogens zu sehen. Diese Spectralumwandlungen beweisen, dass durch Erwärmen in stark alkalischer Lösung der Schwefel aus der Verbindung herausgelöst und Hämochromogen gebildet wird.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **29**. 78. (1900.)

[2]) Ebendas. **14**. 412. (1890.)

368. **Oxyhämocyanin, Hämocyanin**[1]). Aus dem Blut der Arterie von Octopus erhielt Frédéricq Oxyhämocyanin als einzigen albuminartigen Körper, der blau gefärbt ist und wie das Oxyhämoglobin durch Evacuiren in freiwerdenden Sauerstoff und eine farblose Substanz, Hämocyanin, zerlegt werden kann. Von Henze wurde es mit Hülfe eines dem beim Ovalbumin § 283 beschriebenen ähnlichen Verfahrens (unter Benutzung von Ammonsulfat und Essigsäure) krystallinisch erhalten. C 53,66; H 7,33; N 16,09; S 0,86; Cu 0,38 pCt. Die blaue Lösung u. z. sowohl die durch Dialyse salzfrei gemachte als die kochsalzhaltige beginnt bei 68° zu opalesciren und ist bei 72° völlig geronnen. Sättigung mit Ammonsulfat wirkt völlig ausfällend. Die gewöhnlichen Eiweissreactionen sind positiv. Auf vorsichtigen Zusatz von verdünnter Salzsäure fällt unter Verschwinden der Blaufärbung und Abspaltung von Kupfer ein weisser, flockiger Körper von den Eigenschaften des Acidalbumins aus (Henze). Nach Frédéricq spalten Salzsäure oder Salpetersäure den Farbstoff in Eiweissstoff und eine reichlich Kupfer enthaltende, farbige Substanz.

Aehnliche oder identische Farbstoffe gewann Frédéricq aus dem Blute von Crustaceen (z. B. Hummer und Krabben), auch von einigen Gastropoden (z. B. Arion helix).

Nucleoproteïde (und Nucleïnsäuren).

369. Unter Nucleoproteïden, welche in den Organismen sehr verbreitet sind und sich hauptsächlich in den Zellkernen finden, versteht man lockere und festere Verbindungen von Nucleïnsäuren (§ 376) und Eiweiss. Da die einzelnen Nucleoproteïde verschiedene Eiweissstoffe und Nucleïnsäuren und beide auch in verschiedenen Mengenverhältnissen enthalten, so zeigen sie in Zusammensetzung und Eigenschaften nicht unerhebliche Unterschiede. Sie enthalten alle Phosphor, viele auch Eisen und stellen amorphe Substanzen saurer Natur dar, deren in Wasser lösliche Alkaliverbindungen durch Essigsäure gefällt werden. Vorkommen und Zusammensetzung.

Durch Pepsinsalzsäure werden sie zerlegt in Eiweiss, das weiter in Propeptone und Peptone übergeführt wird, und sich abscheidendes Nucleïn (siehe unten). Indessen fanden Milroy[2]) und Umber[3]), dass das Nucleoproteïd aus Pancreas allmählich fast völlig in Lösung geht u. z., wie besonders aus den Untersuchungen von Umber hervorgeht, unter Abspaltung einer Säure von den Eigenschaften der Nucleïnsäuren (Guanylsäure) und Bildung phosphorfreier Propeptone und Peptone. Durch Trypsinverdauung ging diese Spaltung noch viel schneller vor sich. Verhalten zu Pepsin- u. Trypsinverdauung.

Die Nucleïne, im Körper nicht vorkommende, in Wasser und verdünnten Säuren unlösliche oder nur wenig lösliche, in Alkalien lösliche, in Barytwasser ganz unlösliche (Giertz[4]), amorphe Substanzen sind ebenfalls Nucleoproteïde, denn sie stellen auch noch Verbindungen von Eiweiss und Nucleïnsäuren dar, unterscheiden sich aber von ihren Muttersubstanzen durch ihren stärker sauren Character, ihren höheren Phosphorgehalt und durch ihre Widerstandsfähigkeit gegen Pepsinsalzsäure, welche allerdings keineswegs eine absolute ist (Milroy). Durch Trypsinverdauung werden sie gespalten. Nucleïne.

---

[1]) Frédéricq, Bull. de l'acad. roy. de Belgique. (2.) **47**. No. 4. (1879.)
Halliburton, Journ. of Physiol. **6**. 300. (1885.)
Henze, Zeitschr. f. physiol. Chem. **33**. 370. (1901.)

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **22**. 307. (1897.)

[3]) Zeitschr. f. klin. Med. **43**. 282. [4]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **28**. 115. (1899.)

Zersetzungen. Durch die Einwirkung von Alkalien wird aus den Nucleoproteïden Nucleïnsäure abgespalten, bei der hydrolytischen Zersetzung entstehen die Spaltungsproducte der Eiweisstoffe und der Nucleïnsäuren; unter den letzteren sind, so weit die Untersuchungen reichen, auch Pentosen gefunden worden (siehe darüber bei Blumenthal[1]).

Aus jedem Organ sind Nucleoproteïde in mehr oder weniger reinem Zustande dargestellt worden. Genauer untersucht sind bisher nur wenige.

370. **Nucleoproteïde der Thymusdrüse** von Lilienfeld[2]) zuerst beschrieben, von Huiskamp[3]) besser von einander getrennt.

Nucleohiston. a) Nucleohiston fällt aus dem durch Coliren und Centrifugiren geklärten, wässerigen Auszug der Thymusdrüse auf Zusatz von soviel Chlorcalciumlösung, dass die Flüssigkeit 0,1 pCt. enthält, als Calciumverbindung vollständig aus. Der Niederschlag wird in Wasser mit Hülfe weniger Tropfen Ammoniak gelöst und die Lösung nochmals in derselben Weise mit Chlorcalcium gefällt. Dieses Nucleohistoncalcium (C 45,31; H 6,50; N 17,1; P 3,7; S 0,5; Ca 1,34 pCt.) ist in Wasser wenig löslich, unlöslich in 0,1—0,5 proc. Chlorcalciumlösung, löslicher in stärkerer Salzlösung und auch in Ammoniak. Die Alkaliverbindungen sind löslich in Wasser und werden bei einem bestimmten Gehalt der Flüssigkeit an Alkalisalz z. B. 0,9 pCt. Kochsalz theilweise gefällt, durch mehr Alkalisalz wieder gelöst. Aus den Lösungen der Salze fällt das freie Nucleohiston auf Zusatz von Essigsäure aus; es ist in Wasser unlöslich, giebt nur schwache Millon'sche und keine Adamkiewicz'sche Reaction (§ 280 B). Durch 0,8 proc. Salzsäure wird es zerlegt in Histon (§ 323), das in Lösung bleibt, und sich abscheidendes Nucleïn. Auch Kalkwasser bewirkt diese Spaltung. Bei der hydrolytischen Spaltung entsteht eine Pentose, welche als Osazon vom Sm.-P. 158° isolirt wurde (Blumenthal). Ueber die Nucleïnsäuren aus Nucleohiston siehe § 378.

Bang[4]) hält diesen Körper für keinen einheitlichen. Er gewann aus ihm durch weitere Reinigung eine Substanz, die bei der Behandlung mit 0,8 proc. Salzsäure kein Nucleïn, sondern nur Histon und Nucleïnsäure lieferte.

2. Nucleoproteïd. b) Ein zweites Nucleoproteïd (siehe auch Bang a. a. O.) fällt aus dem Filtrat der Chlorcalciumfällung (siehe unter a) auf Zusatz von Essigsäure oder Salzsäure aus, löslich im Ueberschuss, besonders der Salzsäure. Durch Chlorcalcium ist es nur sehr unvollkommen fällbar, durch Alkalisalz gar nicht; in Folge dessen kann man es den zerkleinerten Drüsen durch 0,9proc. Kochsalzlösung entziehen, während das Nucleohiston hierbei nicht in Lösung geht (Bang). Zusammensetzung des Kalksalzes C 49,82; H 7,28; N 15,85; P 0,94; S 1,23; Ca 1,33 pCt. Es giebt die Millon'sche und

---

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1897. S. 245. Zeitschr. f. klin. Med. **34**. 166.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **18**. 473. (1895.) [3]) Ebendas. **32**. 145. (1901.)
[4]) Ebendas. **30**. 508. (1900.) u. Beitr. z. chem. Physiol. u. Path. **1**. 189. (1902.)

Adamkiewicz'sche Reaction (§ 280 B). Durch Sättigen seiner Lösung mit Kochsalz oder Magnesiumsulfat oder Halbsättigung mit Ammonsulfat wird es gefällt, durch Salzsäure wird kein Histon abgespalten. In dem bei der Pepsinverdauung sich abscheidenden Nucleïn findet sich von Nucleïnbasen hauptsächlich Adenin. Es ist in der Thymus in geringerer Menge vorhanden als Nucleohiston und wahrscheinlich im Cytoplasma.

371. **Nucleoproteïd aus Pancreas** von der mittleren Zusammensetzung C 51,35; H 6,81; N 17,12; P 1,67; S 1,29; Fe 0,13 pCt. lässt sich nach Umber[1]) durch Extrahiren der frisch zerkleinerten Drüsen mit physiologischer Kochsalzlösung, Fällen des klaren Filtrats mit Essigsäure, Decantiren des Niederschlags mit essigsäurehaltigem Wasser, Lösen in Wasser unter Zusatz von möglichst wenig Soda, schnelles Filtriren, Wiederholung der Fällung und Behandlung des Niederschlags mit Alkohol und Aether erhalten, aber nur dann, wenn zur Vermeidung der Selbstverdauung des Organs alle Operationen bei niederer Temperatur ausgeführt werden. Es ist in Wasser unlöslich, in Laugen löslich, beim Ansäuern sich wieder abscheidend, in schwacher Essigsäure unlöslich, in starker zum Theil löslich.

Abspaltung eines phosphorreicheren Nucleoproteïds.

Beim Kochen mit Wasser wird es gespalten und es lässt sich aus dem klaren Filtrat durch Essigsäure ein sehr viel phosphorreicheres Nucleoproteïd abscheiden. Ein solches phosphorreiches, eisenhaltiges Proteïd mit 4,48 pCt. P erhielt Hammarsten[2]) durch Kochen der Pancreasdrüse mit Wasser und Fällen des Filtrats mit verdünnter Salzsäure oder Essigsäure. (Andere nach dem gleichen Verfahren dargestellte Präparate enthielten geringeren Phosphorgehalt[3]). Das durch Pepsin-Salzsäure abgespaltene Nucleïn enthält 5,2 pCt. P. Beim Erhitzen mit Alkali im Wasserbade bildet sich u. a. Alkalialbuminat, Eisenoxydhydrat und guanylsaures Alkali (§ 379); beim Kochen mit Säuren entsteht u. a. Guanin (keine andere Nucleïnbase) und l-Xylose (§ 105 Anm., Neuberg[4]). Ueber die Einwirkung von Verdauungsenzymen siehe § 369.

372. **Nucleoproteïd aus Milchdrüse** erhielt Odenius[5]) durch Aufkochen der fein zerhackten Kuheuter mit Wasser und Fällen des klaren erkalteten Filtrats mit verdünnter Essigsäure. Durch wiederholtes Auflösen in Wasser mit Hülfe von möglichst wenig Alkali und Fällen mit Säure sowie durch Extraction mit Alkohol und Aether wurde es gereinigt. Mittlere Zusammensetzung C 47,02; H 6,10; N 17,27; S 0,889; P 0,277; Asche 0,942 pCt. Ziemlich leicht zersetzlich. Beim Kochen mit verdünnter Säure wird Pentose und reichlich Guanin abgespalten; andere Nucleïnbasen wurden nicht gefunden.

373. **Nucleoproteïd aus Thyreoïdea** wurde von Oswald[6]) aus dem Aus-

[1]) Zeitschr. f. klin. Med. **40.** 464.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **19.** 19. (1894.) [3]) Ebendas. **35.** 111. (1902.)
[4]) Ber. d. d. chem. Ges. **35.** 1467. (1902.) [5]) Maly's Jahresber. 1900. S. 39.
[6]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **27.** 35. (1899.)

zug der Schilddrüse mit physiologischer Kochsalzlösung nach Entfernung des Thyreoglobulins (durch Versetzen des Auszugs mit dem gleichen Vol. gesättigter Ammonsulfatlösung) durch Sättigen mit Ammonsulfat abgeschieden. Jodfrei, 0,16 pCt. P enthaltend. In salzhaltigem Wasser und Alkali löslich, durch verdünnte Säure fällbar, in 10 proc. Magnesiumsulfatlösung bei 73° gerinnend.

374. **Nucleoproteïd aus Submaxillardrüse.** Die fein zerschnittenen und ausgewaschenen, dann in gefrorenem Zustande mit Sand fein zerriebenen Drüsen werden mit Wasser, das durch Centrifugiren abgetrennt wird, ausgewaschen, bis es mit Essigsäure keine Trübung mehr giebt, dann mit 0,05 proc. Ammoniak 24 Stunden lang behandelt (Holmgren[1]). Aus der durch Centrifugiren getrennten Flüssigkeit fällt durch Essigsäure das in überschüssiger Essigsäure lösliche Proteïd (15 pCt. N). Das durch Pepsin-Salzsäure abgespaltene Nucleïn enthält 2,9 pCt. P. Unter den Nucleïnbasen wurden Xanthin und Guanin nachgewiesen. Nach dem Kochen mit Säuren reducirt die Flüssigkeit Fehling'sche Lösung.

375. **Nucleoproteïd aus Muskeln.** Durch Extraction der vorher mit Wasser behandelten quergestreiften Muskeln mit 0,15 proc. Sodalösung und Fällung des Auszugs mit Essigsäure von Pekelharing[2]) in geringer Menge erhalten, in Wasser unlöslich. Unter den Nucleïnbasen hauptsächlich Xanthin, wenig Guanin.

Nucleïnsäuren.

376. Nucleïnsäuren[3]) finden sich in festerer und lockerer Verbindung mit Eiweissstoffen und Histonen, sowie mit Protaminen in weiter Verbreitung in den Geweben. Sie geben in reinem Zustande keine Eiweissreactionen, enthalten Kohlenstoff, Wasserstoff, Stickstoff, Sauerstoff und Phosphor (einige auch Eisen) und liefern bei der Spaltung Phosphorsäure und Nucleïnbasen (Kossel). Sie zeigen im Uebrigen grosse Verschiedenheiten untereinander und bedürfen noch sehr der Untersuchung. Manche geben bei der Spaltung Thymin (§ 120) (Thymonucleïnsäuren), andere nicht (Guanylsäure, Inosinsäure, Plasminsäure).

---

1) Maly's Jahresber. 1897. S. 36.

2) Zeitschr. f. physiol. Chem. **22**. 245. (1897.)

3) Miescher, Med. chem. Unters. v. Hoppe-Seyler. Heft 4. S. 441. (1871.) Verh. d. naturf. Ges. zu Basel. **6**. 138. (1874.) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **37**. 100. (1896.)

Altmann, Arch. f. Anat. u. Physiol. Physiol.-Abthlg. 1889. S. 524.

Kossel, Liebreich's Encykl. Bd. III. Arch. f. Anat. u. Physiol. Physiol.-Abthlg. 1891. S. 181. u. 1893. S. 157.

Kossel u. Neumann, Ebendas. 1894. S. 194. Ber. d. d. chem. Ges. **26**. 2753. (1893.) **27**. 2215. (1894.) Sitzungsber. d. kgl. pr. Akad. d. Wiss. 1894. S. 321. Zeitschr. f. physiol. Chem. **22**. 74. (1897.)

Neumann, Arch. f. Anat. u. Physiol. Physiol.-Abthlg. 1898. S. 374. u. 1899. Supplb. S. 552.

Schmiedeberg, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **43**. 57. (1900.)

377. **Thymonucleïnsäuren.** Zu ihrer Darstellung kann man nach Schmiedeberg oder nach A. Neumann verfahren.

1. Darstellung nach Schmiedeberg aus Fischsperma und Geweben als nucleïnsaures Kupfer. Die von Schwänzen getrennten Köpfe (siehe „Untersuchung des Spermas") der Lachsspermatozoën werden zur Entfernung des Protamins mit einer Lösung vom Kupferchlorid behandelt, durch Decantation mit Kupferchlorid und Wasser ausgewaschen, in eine neutrale Kaliumacetatlösung gebracht und, nachdem durch die hierbei erfolgende Quellung auch die inneren Theile der Köpfe für die Einwirkung des Kupferchlorids zugänglich geworden sind, abermals mit viel Kupferchlorid behandelt. Um von den so protaminfrei gemachten Köpfen die letzten Reste eiweissartiger Substanz zu entfernen, werden sie mit verdünnter Kalilauge zu einer blauen, schleimigen Flüssigkeit angerührt und mit Alkohol gefällt, wobei die eiweissartigen Stoffe in Lösung bleiben. Lösung und Fällung wird wiederholt, bis die Flüssigkeit keine Biuretreaction mehr zeigt. Hierauf löst man das kupferhaltige nucleïnsaure Kalium in viel Wasser zu einer verdünnten Lösung, säuert mit Essigsäure stark an, klärt durch Centrifugiren, fällt mit Kupferchlorid und wäscht das nucleïnsaure Kupfer bis zum Verschwinden der Chlorreaction mit Wasser aus. Darstellung.

In ähnlicher Weise stellte Schmiedeberg nucleïnsaures Kupfer aus dem mit Wasser und Alkohol ausgewaschenen Pepsinsalzsäureverdauungsrückstand der Thymusdrüse[1]) dar.

2. Darstellung nach A. Neumann aus Thymus, Milz, Pancreas, Stierhoden. 1 Kilo rein präparirte Thymus wird in schwach essigsäurehaltigem Wasser gekocht, fein zerhackt, in 2 Liter siedendes Wasser, dem vorher 100 ccm 33 proc. Natronlauge und 200 g Natriumacetat zugefügt waren, gebracht und auf dem Wasserbade am Rückflusskühler $\frac{1}{2}$ oder 2 Std. gekocht, je nachdem man die Säure a oder b (s. unten) erhalten will. Nach der Neutralisation mit etwa 150 ccm 50 proc. Essigsäure wird (bei a durch Heisswassertrichter) filtrirt, das Filtrat auf etwa $\frac{1}{2}$ bis 1 Liter eingedampft und nach dem Abkühlen auf etwa 40° durch das gleiche Volumen Alkohol gefällt. Das abgeschiedene Natronsalz löst man in 500 ccm Wasser, erhitzt auf dem Wasserbade, bis die trübe Flüssigkeit einen Niederschlag abgeschieden hat und wieder klar geworden ist, filtrirt und fällt mit Alkohol. Lösung und Fällung wird so lange wiederholt, bis Alkohol erst auf Zusatz von wenig Natriumacetat eine Fällung erzeugt, und nun die Lösung in die dreifache Menge salzsäurehaltigen Alkohols (2 ccm conc. Salzsäure auf 100 ccm Alkohol) eingegossen. Der Niederschlag (bei a voluminöser, als bei b) wird abfiltrirt und bis zum Verschwinden der sauren Reaction mit Alkohol und zuletzt mit Aether gewaschen.

Die Säuren a und b unterscheiden sich nur dadurch, dass a noch

---

[1]) Herlant, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **44**. 148. (1900.)

schwerer in Wasser löslich ist als b und dass a in einer mindestens 5 proc. mit Hülfe von Natriumacetat hergestellten Lösung gelatinirt, b nicht.

Eigenschaften. Die Thymonucleïnsäuren sind weisse, pulverige Substanzen mit 9 bis 10 pCt. Phosphor, in Alkohol und Aether unlöslich, in kaltem Wasser sehr schwer löslich, leicht löslich in Alkalien, Ammoniak, Alkalicarbonaten und -acetaten, durch Essigsäure nicht fällbar, aber durch Mineralsäuren. Sie bilden unlösliche Salze mit Schwermetallen und unlösliche basische Salze mit alkalischen Erden. In essigsaurer Lösung geben sie mit Eiweiss Niederschläge (künstliche Nucleïne), die in Salzsäure schwer löslich oder unlöslich sind. Sie zeigen die Pentosereactionen (§ 105). In neutraler und nicht zu stark alkalischer Lösung sind sie selbst beim Erhitzen auf dem Wasserbade beständig, beim Kochen mit stärkeren Alkalien färben sie sich gelb bis braun unter Entwickelung von Caramelgruch. Die freien Säuren zersetzen sich beim Kochen. Ueber die Spaltungsproducte siehe § 376.

Zersetzungen.

Salmonucleïnsäure, Thymusnucleïnsäure. 378. Salmonucleïnsäure und Thymusnucleïnsäure haben, nach dem Verfahren von Schmiedeberg dargestellt (§ 377, 1), die gleiche Zusammensetzung $C_{40}H_{56}N_{14}O_{16} . 2 P_2O_5$ und liefern beide bei der Spaltung Adenin und Guanin. Die nach Neumann's Verfahren (§ 377, 2) dargestellten Säuren sind noch nicht analysirt. Beim Lösen in Wasser von 60° geht die Thymusnucleïnsäure nach A. Neumann in die Nucleothyminsäure über, welche in kaltem Wasser leicht löslich ist, im Uebrigen aber die Eigenschaften der Nucleïnsäuren zeigt. Beim Erhitzen der freien Thymusnucleïnsäure in Wasser bei Wasserbadtemperatur entsteht nach Kossel und Neumann unter Abspaltung der Nucleïnbasen die Thyminsäure, welche in kaltem Wasser leicht löslich ist, durch Mineralsäuren nicht gefällt wird und in essigsaurer Lösung mit Eiweissstoffen und Albumosen in Salzsäure leicht lösliche Niederschläge giebt. Schmiedeberg nennt den basenfreien Atomcomplex der Salmonucleïnsäure Nucleotinphosphorsäure; eine völlige Abtrennung der Basen ist ihm nicht gelungen.

Zersetzung. Beim Erhitzen der Thymusnucleïnsäure mit 20 proc. Schwefelsäure 2 Stunden auf 150° erhielten Kossel und Neumann Thymin (8 pCt.), Phosphorsäure (etwa 23 pCt. P_2O_5), Laevulinsäure und Ameisensäure in erheblichen Mengen (Spaltungsproducte von Hexosen), Ammoniak, Nucleïnbasen (Guanin, Adenin) und eine nur an dieser Stelle gefundene Base Cytosin.

Cytosin. Cytosin $C_{21}H_{30}N_{16}O_4 + 5 H_2O$ ist eine schön krystallisirende, in heissem Wasser leicht lösliche Substanz. Das Krystallwasser entweicht bei 100°. Sulfat, Nitrat, Pikrat, Platin- und Goldchloriddoppelsalz krystallisiren gut. Kaliumwismuthjodid erzeugt selbst in sehr verdünnter, angesäuerter Lösung einen ziegelrothen, krystallinischen Niederschlag.

Thymonucleïnsäure aus Pancreas und Milz sind von Levene[1]) als Kupfersalze isolirt und analysirt. Für die Säure aus Pancreas wurde ge-

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **32.** 541. (1901.)

funden: C 36,59; H 4,89; N 16,88; P 8,8 pCt. Die Säure aus Milz zeigte sehr ähnliche Zusammensetzung.

Thymonucleïnsäure aus Störsperma liefert bei der hydrolytischen Spaltung Laevulinsäure, auf die andern Spaltungsproducte ist nicht untersucht worden (Noll[1]).

Die Nucleïnsäuren aus Seeigelsperma (Mathews[2]) und aus Häringssperma (Mathews, Gulewitsch[3]) scheinen mit der Salmonucleïnsäure übereinzustimmen.

379. **Guanylsäure** wurde von Bang[4]) aus Pancreasnucleoproteïd (§ 371) dargestellt und ist nach ihm eine 5 basische Säure von der Formel $C_{44}H_{66}N_{20}P_4O_{34}$. Man erhitzt 12 g Nucleoproteïd mit 400 ccm 2 proc. Kalilauge $^1/_2$ Stunde in kochendem Wasserbade, neutralisirt und filtrirt kochend heiss. Der bis zum nächsten Tage entstandene Bodensatz wird mit destillirtem Wasser aufgeschlemmt, zum Kochen erhitzt, heiss filtrirt, der entstehende Niederschlag nach 24 Stunden nochmals derselben Behandlung unterworfen und dann in ca. 1 proc. Kalilauge gelöst. Das Filtrat säuert man unter Umrühren mit 5 proc. Essigsäure an, filtrirt die sich abscheidende Guanylsäure ab und wäscht mit Alkohol und Aether aus. Darstellung.

Die Guanylsäure, ein weisses, nicht hygroskopisches Pulver, ist in warmem Wasser leicht löslich, scheidet sich beim Erkalten theilweise wieder ab, in Alkalien und Ammoniak ziemlich leicht löslich, durch Essigsäure und vorsichtigen Zusatz von Salzsäure fällbar, in Mineralsäuren, selbst 1 proc. Salzsäure, leicht löslich, ebenso in conc. Essigsäure, in alkalischer Lösung durch Alkohol fällbar, in salzsaurer nicht. Mit den meisten Schwermetallen bildet sie unlösliche Salze, wird durch Phosphorwolframsäure in saurer Lösung gefällt, ebenso durch Gerbsäure, Pikrinsäure, giebt die Xanthoproteïnreaction (§ 280 B). Gegen Kochen mit Wasser ist sie widerstandsfähig, durch längeres Kochen wird sie zersetzt. Eigenschaften.

Beim Kochen mit Säuren zerfällt sie nach Bang in 4 Mol. Guanin, 3 Mol. einer Pentose, welche von Neuberg als l-Xylose (§ 105 Anm. und Cit. 4. S. 361) erkannt wurde, 3 Mol. Glycerin und 4 Mol. Phosphorsäure. Zersetzung.

380. **Inosinsäure** $C_{10}H_{13}N_4PO_8$ wurde von Liebig im Fleisch entdeckt, aber erst von Haiser[5]) in ihrer Zusammensetzung erkannt.

Zur Darstellung wird 1 Kilo Fleischextract am Rückflusskühler mit mehrfach gewechseltem Alkohol ausgekocht, bis der Rückstand eine zerreibliche oder sandige Masse geworden ist. Diese wird in mässig warmem Wasser (2—3 Liter) gelöst, die Lösung filtrirt und vorsichtig mit Barytwasser ausgefällt, das alkalische Filtrat mit Salpetersäure genau neutralisirt und mit conc. Silbernitratlösung gefällt. Nach Zerlegung des schnell abfiltrirten und mit Wasser gewaschenen Niederschlags mit Schwefel- Darstellung.

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **25**. 430. (1898.) 2) Ebendas. **23**. 399. (1897.)
3) Ebendas. **27**. 292. (1899.) 4) Ebendas. **26**. 133. (1899.) u. **31**. 411. (1901.)
5) Monatsh. f. Chem. **16**. 190. (1895.)

wasserstoff wird das von Schwefelwasserstoff befreite Filtrat nach Zusatz von Bariumcarbonat gekocht, filtrirt und auf etwa 250 ccm eingedampft. Beim Erkalten scheidet sich das inosinsaure Barium in perlmutter-glänzenden Blättchen aus.

Eigenschaften. Die freie Säure ist amorph, bildet aber ausser dem mit $7^1/_2$ Mol. Wasser krystallisirenden Barytsalz ein ebenfalls krystallisirendes Kalksalz. Beim dreistündigen Erhitzen ihrer wässerigen Lösung zerfällt sie in Hypoxanthin und vielleicht Trioxyvalerianphosphorsäure.

381. **Plasminsäure.** Ueber diese von Kossel aus Hefe dargestellte Nucleïnsäure siehe Ascoli[1]).

Paranucleoproteïde (Nucleoalbumine).

Vorkommen. 382. Die Paranucleoproteïde (Nucleoalbumine) sind Verbindungen von Eiweiss mit einem noch nicht näher bekannten phosphorhaltigen Atomcomplex. Sie finden sich besonders als Bestandtheile der Nahrung wachsender Organismen (Milch, Eidotter, Pflanzensamen) (Kossel), aber auch in Secreten und vielleicht überhaupt in weiter Verbreitung in den Zellen. Eine Beziehung dieser Körper zum Zellkern scheint nicht zu bestehen und deswegen der Name nicht glücklich gewählt. Sie sind in vieler Beziehung den Nucleoproteïden ähnlich und wurden früher mit ihnen zusammengeworfen, unterscheiden sich aber von ihnen dadurch, dass sie bei der Spaltung keine Nucleïnbasen liefern (Kossel).

Allgemeine Eigenschaften. Sie sind Säuren, in Wasser fast unlöslich, aber mit Hülfe von etwas Alkali leicht löslich. Diese neutralen Lösungen coaguliren nicht.

Verhalten zu Pepsinsalzsäure. Zum Theil enthalten sie Eisen. Bei der Magenverdauung kommt es zur Abscheidung einer phosphorreicheren Substanz, der Para- (Pseudo-) nucleïne. Dieselben sind ebenso wie die unter der gleichen Bedingung aus den Nucleoproteïden entstehenden Nucleïne (§ 369) in Alkalien löslich und durch Säuren wieder fällbar, unterscheiden sich aber von ihnen ausser durch das Fehlen von Nucleïnbasen unter ihren Spaltungsproducten auch durch ihre leichte Löslichkeit und Zersetzbarkeit in Barytwasser (Giertz[2]). Energische und anhaltende Pepsin-Salzsäurewirkung wird die Paranucleïne vermuthlich völlig spalten und lösen, wie das für das Caseïn von Salkowski nachgewiesen ist. Aus mehreren Paranucleoproteïden sind auch phosphorhaltige Säuren, die von den Nucleïnsäuren sehr verschieden sind, auch noch Biuret- und andere Farbenreactionen geben, Paranucleïnsäuren, erhalten worden.

Zu den Paranucleoproteïden gehören das Caseïn, Vitellin, Ichthulin, Nucleoalbumin aus Rindergalle.

Vorkommen. 383. **Caseïn** wurde bisher nur in der Milch nachgewiesen; die caseïnähnlichen Stoffe im Hauttalg (Hoppe-Seyler), in der Bürzeldrüse der

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **28.** 426. (1899.), hier auch die ältere Literatur.
2) Ebendas. **28.** 115. (1899.)

Vögel (de Jonge[1]), im Kropf der Tauben nach Auskriechen der Jungen aus den Eiern (Cl. Bernard[2]) bedürfen weiterer Untersuchung.

Zur Darstellung aus Kuh- oder Ziegenmilch versetzt man die mit dem vier- bis zehnfachen Vol. Wasser verdünnte, abgerahmte Milch vorsichtig mit verdünnter Essigsäure bis zur möglichst guten Ausfällung, reinigt den durch Leinwand abfiltrirten, käsigen Niederschlag durch wiederholtes Lösen in Wasser mit Hülfe einiger Tropfen Natronlauge und Ausfällen mit Essigsäure, wäscht mit Wasser, mit Alkohol und Aether, extrahirt im Soxhlet'schen Apparat und trocknet (Hoppe-Seyler). Darstellung: aus Kuhmilch.

Zur Darstellung aus Frauenmilch wird die centrifugirte Milch mit $^1/_5$ Vol. $^n/_{10}$ Essigsäure versetzt und 5 Tage lang gegen täglich gewechseltes Chloroformwasser dialysirt. Während dessen scheidet sich das Caseïn aus. Man centrifugirt oder lässt absitzen, bringt den Niederschlag auf ein Filter, wäscht mit schwach essigsäurehaltigem Wasser, dann mit Alkohol und Aether aus und extrahirt zuletzt im Soxhlet'schen Apparat (Kobrak[3]). aus Frauenmilch.

Das Caseïn der Kuhmilch hat nach Hammarsten[4]), dessen Arbeiten die Kenntniss des Caseïns besonders gefördert haben, die Zusammensetzung C 53,00; H 7,00; N 15,70; S 0,80; P 0,85; O 22,65 pCt. Nach K. A. H. Mörner[5]) enthält es 0,064 pCt. bleischwärzenden Schwefel. Für das Caseïn der Frauenmilch fand Makris[6]) C 52,35; H 7,27; N 14,65; S + O 25,73 pCt. (Phosphor wurde nicht bestimmt), Wroblewski[7]) C 52,24; H 7,32; N 14,97; P 0,68; S 1,12; Asche 1 pCt. Zusammensetzung.

Caseïn stellt ein weisses, nicht hygroskopisches Pulver dar von den Eigenschaften einer schwachen Säure und schliesst sich in seinen Eigenschaften den Alkalialbuminaten an. In Wasser und Salzlösungen ist es so gut wie unlöslich, in Alkalien, Alkalicarbonaten, Baryt- und Kalkwasser löst es sich leicht, ebenso löst es sich in essigsauren und oxalsauren Alkalien und auch in Wasser bei Gegenwart von Calciumcarbonat unter Austreibung von Kohlensäure. Die Lösungen des Frauencaseïns sind mehr opalescent, die des Kuhcaseïns mehr durchscheinend (Kobrak), sie vermögen Calciumphosphat in Lösung zu erhalten und gerinnen beim Erhitzen nicht. Durch vorsichtigen Zusatz von Essigsäure oder Salzsäure wird Caseïn ausgefällt u. z. das Kuhcaseïn in Flocken, das Frauencaseïn mehr gallertartig; Ueberschuss, besonders der Salzsäure, wirkt wieder lösend. Bei Gegenwart von Chloralkalien bedarf es mehr Essigsäure zur Hervorrufung des Niederschlags. Durch Sättigung seiner Lösung mit Kochsalz Eigenschaften.

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **3**. 225. (1879.)
2) Leçons sur les propriétés pysiol. des liquid. ct. **2**. 232. (1859.)
3) Arch. f. d. ges. Physiol. **80**. 69. (1900.)
4) Maly's Jahresber. 1872. S. 118. 1874. S. 135. 1877. S. 158. Zeitschr. f. phys. Chem. **7**. 227. (1883.) **9**. 273. (1885.) **22**. 103. (1897.)
5) Ebendas. **34**. 285. (1902.)
6) Diss. Strassburg. 1876.
7) Maly's Jahresber. 1894. S. 211.

oder Magnesiumsulfat, durch Halbsättigung mit Ammonsulfat wird es gefällt, ebenso durch Metallsalze. Millon'sche Reaction sehr stark, Molisch-sche und Schwefelbleireaction äusserst schwach, aber deutlich (§ 280 B).

Optische Eigenschaften. Hoppe-Seyler fand für Kuhcaseïn $[\alpha]_D$ in neutraler Lösung $= -80^0$, in schwach alkalischer $= -76^0$, in stark alkalischer $= -91^0$.

Verhalten zu Labferment. Caseïnlösungen (ebenso Milch) gerinnen bei neutraler oder schwach saurer Reaction auf Zusatz von Lab. Diese Gerinnung findet aber nur statt bei Gegenwart löslicher Kalkverbindungen, wie sie in der Milch vorhanden sind. Das Labferment bewirkt wahrscheinlich eine Spaltung des Caseïns in das in Wasser schwer lösliche Paracaseïn (Käse) und eine in geringer Menge auftretende, leicht lösliche albumoseähnliche Substanz, das Molkeneiweiss. Diese Spaltung erfolgt auch wenn kein Kalksalz in Lösung ist, aber die Gerinnung tritt erst auf Zusatz eines löslichen Kalksalzes ein (Hammarsten). Das Paracaseïn verhält sich dem Caseïn sehr ähnlich, löst aber weniger Calciumphosphat wie dieses. Frauencaseïn gerinnt durch Lab nur unvollkommen schleimig. Ist das Caseïn mit starker Säure oder viel Alkali behandelt oder hat es einige Zeit gefällt unter Wasser gestanden, so ist es verändert und giebt mit Lab keine Gerinnung mehr.

Verhalten zu Pepsinsalzsäure. Bei der Pepsinsalzsäureverdauung wird das Caseïn (nach Kobrak auch das Frauencaseïn) gespalten in sich abscheidendes Paranucleïn und in Lösung gehende Propeptone und Peptone*). Der Phosphor befindet sich zum Theil im Paranucleïn (es enthält über 2 pCt. organisch gebundenen Phosphor) zum Theil in Lösung in Form einer organischen Säure, der Paranucleïnsäure (§ 384). Unter sehr günstigen Verdauungsbedingungen (1 Th. Caseïn auf 500 Th. Verdauungsflüssigkeit) bleibt gar kein Paranucleïn zurück und aller Phosphor findet sich in Lösung (Salkowski[1]). Eine Abspaltung von Orthophosphorsäure findet dabei nicht statt.

Zersetzungen. Bei der hydrolytischen Spaltung (durch Salzsäure) entstehen Glykocoll (in Spuren), Aminovaleriansäure, Leucin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Phenylalanin (mindestens 2,5 pCt)), Tyrosin (mindestens 3,2 pCt.), α-Pyrrolidincarbonsäure (mindestens 3,2 pCt.) (E. Fischer[2]); ferner nach Hart[3]) (derselbe spaltete mit Schwefelsäure) 1,43 pCt. Ammoniak, 4,7 pCt. Arginin, 1,92 pCt. Lysin, 2,53 pCt. Histidin, in einem andern Versuch 1,3 pCt. Ammoniak und 4,4 pCt. Lysin.

Paranucleïnsäure. 384. Paranucleïnsäure (Salkowski[4]). Zur Isolirung (die genauen Angaben siehe in der Originalarbeit) versetzt man die vom Paranucleïn abfiltrirte Verdauungsflüssigkeit (§ 383) mit Ferriammonsulfat, erhitzt, filtrirt den Niederschlag (Eisenverbindung der Säure) ab, zerlegt ihn in der Wärme mit verdünnter Natronlauge, fällt aus dem mit Essigsäure

*) Zuletzt von Alexander untersucht. Zeitschr. f. physiol. Chem. **25**. 411. (1898.)
[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. **59**. 225. (1895.), **63**. 401. (1896.)
[2]) Zeitschr. f. physiol. Ch. **33**. 151. (1901.) [3]) Ebendas. **33**. 356. (1901.)
[4]) Ebendas. **32**. 245. (1901.)

versetzten Filtrate die Säure mit Kupferacetat, zerlegt diesen Niederschlag mit Schwefelwasserstoff und fällt die eingeengte Flüssigkeit mit Alkohol. Die so gewonnene Säure, deren Einheitlichkeit indess noch nicht sicher festgestellt ist, stellt ein weisses Pulver dar von der Zusammensetzung C 42,96; H 7,09; N 13,55; P 4,05 pCt., in Wasser löslich, in Alkohol unlöslich. Die wässerige Lösung löst Calciumcarbonat unter Kohlensäureentwickelung. In 1proc. Lösungen rufen Kupferacetat, Bleiessig, Gerbsäure, Phosphorwolframsäure starke, Sublimat, Trichloressigsäure erst bei reichlichem Zusatz geringe Niederschläge hervor; Silbernitrat, Metaphosphorsäure, Essigsäure + Ferrocyankalium bewirken keine Fällung. Eiereiweiss und Pepton-Witte rufen Trübungen hervor. $[\alpha]_D = -46^0$ (ungefähr). Biuretprobe positiv, Xanthoproteïn- und Millon'sche Probe schwach positiv, Proben von Molisch und Adamkiewicz negativ (§ 280 B). Beim Kochen einer 10 proc. Lösung mit dem gleichen Vol. gesättigten Barytwassers scheidet sich ein reichlicher, flockiger Niederschlag ab, welcher nicht aus phosphorsaurem Barium besteht; kocht man längere Zeit mit Barytwasser oder kocht man mit starker Natronlauge mehrere Minuten lang, so wird Phosphorsäure abgespalten.

385. **Opalisin** nennt Wróblewski[1]) einen Stoff, der nach ihm präformirt in der Milch vorhanden ist und aus dem Filtrat der Essigsäurefällung des Caseïns durch Aussalzen erhalten werden kann. In Frauenmilch soll es in reichlicher, in Stutenmilch in kleinerer, in Kuhmilch in sehr kleiner Menge vorkommen. Es enthält Phosphor und Schwefel und ist in Wasser sehr wenig löslich, in Alkalien löslich. Die Lösungen opalesciren und werden weder beim Kochen noch bei der Dialyse gefällt. Essigsäure fällt es aus, der Niederschlag ist im Ueberschuss nicht völlig löslich, die Flüssigkeit opalescirt stark und bildet beim Schütteln kleine, klebrige, faserige Flöckchen. Es giebt die Farbenreactionen (§ 280 B), die Schwefelbleiprobe sehr schwach, reducirt nicht nach dem Kochen mit Säuren und spaltet bei der peptischen Verdauung kein Paranucleïn ab. Weitere Untersuchung ist nothwendig.

386. **Vitellin**[2]) findet sich im Eigelb in Verbindung mit Lecithin als globulinartiger, in Kochsalzlösung löslicher, beim Dialysiren ausfallender Körper. Frei von Lecithin erhält man es nur mit Hülfe von Alkohol, wodurch es aber gleichzeitig verändert und in Salzlösungen unlöslich wird. Vorkommen.

Das durch wiederholtes Ausschütteln des mit etwa 10 proc. Kochsalzlösung vermischten Eigelbs mit Aether, Dialysiren der wässerigen Lösung oder Eingiessen derselben in das 10 bis 20 fache Vol. Wasser, Lösen des entstandenen Niederschlags in Salzsäure, mehrfache Wiederholung dieses Verfahrens und schliessliches Behandeln des Niederschlags mit Alkohol (event. heissem) erhaltene lecithinfreie Vitellin hat nach Osborne und Campbell[3]) die Zusammensetzung (aschefrei berechnet): C 51,24; H 7,16; N 16,38; S 1,03; (bleischwärzenden S 0,36); P 0,94 pCt., ausserdem enthält es Eisen in organischer Bindung. Darstellung und Zusammensetzung.

Bei der Behandlung mit Pepsinsalzsäure entsteht Paranucleïn mit höherem, aber inconstantem Phosphorgehalt. Levene und Alsberg[4]) er- Eigenschaften.

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **26**. 308. (1899.)
2) Hoppe-Seyler, Med. chem. Unters. Heft 2. S. 215. (1867.)
Th. Weyl, Zeitschr. f. physiol. Chem. **1**. 74. (1878.)
3) Journ. of the Americ. Chem. Soc. **22**. 413. (1900.)
Stud. fr. the Res. Lab. Connecticut Rep. f. 1900. p. 443.
4) Zeitschr. f. physiol. Chem. **31**. 543. (1901.)

hielten aus Vitellin durch Spaltung mit Ammoniak eine in Wasser unlösliche, in Ammoniak, essigsauren Salzen lösliche Paranucleïnsäure (Vitellinsäure), die nicht durch Essigsäure aber durch Salzsäure gefällt wird, in essigsaurer Lösung mit Albumosen Niederschläge giebt und in Wasser lösliche Alkalisalze, unlösliche Barium-, Kupfer- und Eisensalze bildet. Sie enthält Eisen und 9—10 pCt. P, giebt die Biuret- und Millonsche Reaction und liefert bei der Spaltung Hexonbasen. Säuren mit im Ganzen denselben Eigenschaften, aber nur 7—8 pCt. P, sind schon früher von Altmann[1]) und Milroy[2]) aus Hämatogen, einem Körper, den Bunge[3]) durch peptische Verdauung des mit Aether extrahirten Eidotters als Rückstand erhielt, dargestellt worden.

Vitellinsäure. Hämatogen.

387. **Ichthulin aus Kabeljaueiern** wurde von Levene[4]) dargestellt durch Schütteln der mit Sand zerriebenen Eier mit 5proc. Salmiaklösung und Aether, Versetzen der filtrirten wässerigen Flüssigkeit mit der 20fachen Menge Wasser, Abfiltriren des entstandenen Niederschlags, Wiederholung der Operation (Lösen des Niederschlags in 5proc. Salmiak, Schütteln mit Aether, Fällen mit Wasser), bis das Wasser keine Biuretreaction mehr zeigt, Behandeln des Niederschlags mit Alkohol und Aether. C 52,44; H 7,45; N 15,96; S 0,92; P 0,65; Fe + O 22,58 pCt. Die Substanz kann aus ihrer Lösung auch durch Kohlensäure und sehr verdünnte Essigsäure gefällt werden. Sie unterscheidet sich von dem Ichthulin aus Karpfeneiern (§ 388) dadurch, dass sie bei der hydrolytischen Spaltung kein reducirendes Kohlehydrat abspaltet und dass sie bei der Behandlung mit Ammoniak eine Paranucleïnsäure (Ichthulinsäure) mit 10,34 pCt. P liefert, welche in Zusammensetzung und Verhalten der Vitellinsäure (§ 386) sehr ähnlich ist.

Ichthulinsäure.

388. **Ichthulin aus Karpfeneiern** zuerst von Valenciennes und Frémy[5]), dann in reinem Zustande von Walter[6]) durch Ausfällen des (mit wenig Wasser hergestellten und mit Aether von Fett befreiten) Rogenextractes der Karpfeneier mit viel Wasser und Kohlensäure, Abfiltriren des Niederschlags, Behandeln des Rückstandes mit Alkohol und Aether gewonnen, stellt ein Paranucleoproteïd dar von der Zusammensetzung C 53,52; H 7,71; N 15,64; S 0,41; P 0,43; Fe 0,10 pCt. Frisch gefällt löst es sich in verdünntem Ammoniak oder Natronlauge, in verdünnter Salzsäure oder Essigsäure leicht zu klaren Flüssigkeiten. Verdünnte Salzlösungen bewirken vollständige, aber schwach opalescirende Lösungen, aus welchen das Ichthulin beim Sättigen mit dem betreffenden Salz mehr oder weniger vollständig abgeschieden wird; auch durch starkes

---

1) Arch. f. Anat. u. Physiol. Physiol. Abthlg. 1889. S. 524.
2) Zeitschr. f. physiol. Chem. **22**. 325. (1897.) 3) Ebendas. **9**. 49. (1882.)
4) Ebendas. **32**. 281. (1901.)
5) Compt. rend. **38**. 471 ff. (1854.)
Gobley, Journ. de pharm. et de chim. [3.] **17**. 401. (1850.)
6) Zeitschr. f. physiol. Chem. **15**. 477. (1891.)

Verdünnen mit Wasser und Einleiten von Kohlensäure wird es aus diesen Lösungen ausgeschieden. Beim längeren Liegen unter Wasser verliert es seine Löslichkeit in Salzlösungen. Bei der Verdauung mit Pepsinsalzsäure zerfällt es in Eiweissstoff, einen noch nicht näher bekannten phosphorhaltigen Körper und Paranucleïn. Nach dem Kochen mit Säuren reducirt die Flüssigkeit Fehling'sche Lösung.

389. **Nucleoalbumin aus Rindergalle** wird durch Fällen der filtrirten Rindergalle mit dem fünffachen Vol. absoluten Alkohols, schnelles Centrifugiren, Lösen des Bodensatzes in Wasser und mehrfache Wiederholung dieses Verfahrens als Alkaliverbindung erhalten. Durch Fällen seiner wässrigen Lösung mit Essigsäure gewinnt man das Nucleoalbumin (Paijkull[1]). Aus der Gallenblasenschleimhaut lässt sich derselbe Körper darstellen. Es hat die Zusammensetzung C 50,89; H 6,7; N 16,14; S 1,66 pCt. Phosphor war vorhanden, wurde aber nicht bestimmt. Es löst sich mit Hülfe von möglichst wenig Alkali zu einer schleimigen, fadenziehenden Flüssigkeit, die beim Kochen nicht coagulirt, wohl aber nach Zusatz einer Spur Essigsäure. Essigsäure ruft einen im Ueberschuss löslichen Niederschlag hervor, desgleichen Salzsäure. Die saure Flüssigkeit wird durch Ferrocyankalium und Sublimat gefällt. Schwermetallsalze rufen in neutralen Lösungen Niederschläge hervor. Pepsinsalzsäure scheidet ein Paranucleïn ab. Beim Kochen mit Säure tritt keine reducirende Substanz auf.

Von einer Reihe anderer mehr oder weniger gut untersuchter phosphorhaltiger und bei der Einwirkung von Pepsinsalzsäure eine Abscheidung gebender Stoffe lässt sich nicht sagen, ob sie zu den Nucleo- oder den Paranucleoproteïden gehören, da Angaben darüber fehlen, ob bei der Spaltung Nucleïnbasen entstehen oder nicht. Dazu gehören von Halliburton aus Niere, Leber, Gehirn, Knochenmark u. s. w. durch Fällung der Wasserauszüge mit Essigsäure isolirte Körper, ferner eine von Hammarsten[2]) aus Synovia erhaltene mucinähnliche Substanz*) und ferner Stoffe, welche Lönnberg[3]) aus Nierengewebe und Blasenschleimhaut dargestellt und analysirt hat, sowie von Paijkull[4]) in Transsudaten gefundene Verbindungen.

Nucleone nennt Siegfried[5]) phosphorhaltige Substanzen, die er aus Fleisch und Milch in Form ihrer Eisenverbindungen isolirte.

---

*) Das von Salkowski, Arch. f. path. Anat. 131. 304. (1893) aus krankhaft veränderter Synovia durch Essigsäurefällung erhaltene in überschüssiger Essigsäure unlösliche Synovin enthält keinen Phosphor und reducirte nicht nach dem Kochen mit Säuren.

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **12**. 196. (1888.)

2) Maly's Jahresber. 1882. S. 480. 3) Ebendas. 1890. S. 11.

4) Ebendas. 1892. S. 558.

5) Arch. f. Anat. u. Physiol. Physiol. Abthlg. 1894. S. 401. Zeitschr. f. physiol. Chem. **21**. 360. (1896) u. **28**. 524. (1899.) Krüger, Ebendas. **22**. 95. (1897.) Balke, Ebendas. **22**. 248. (1897.)

Der enteiweisste Muskelauszug bezw. Fleischextractlösung oder von Eiweiss befreite Milch wird durch Chlorcalcium und Ammoniak von Phosphaten befreit und dann in der Hitze mit Eisenchlorid (unter Abstumpfen der sauren Reaction bis zur schwach sauren mit Ammoniak) so lange versetzt, bis eine filtrirte Probe nach stärkerem Ansäuern eine schwache Eisenreaction giebt.

Carniferrin. Der abgesaugte, mit Wasser, Alkohol und Aether gewaschene Niederschlag, Carniferrin, enthält gegen 30 pCt. Fe und 2 pCt. P. Es stellt die Eisenverbindung des Nucleons dar, ist in Alkalien löslich und giebt keine Eisenreaction. Eine Darstellung des Nucleons ist nicht gelungen, da die Entfernung des Eisens ohne gleichzeitige Phosphorsäureabspaltung sich nicht ausführen liess.

Phosphorfleischsäure. Bei der Spaltung des Nucleons aus Fleisch, das von Siegfried Phosphorfleischsäure genannt wird, entstehen nach Siegfried Fleischsäure (§ 314), Kohlensäure, Phosphorsäure, Bernsteinsäure, Milchsäure und eine Kohlehydratgruppe.

Glykoproteïde.

Zusammensetzung. 390. Die Glykoproteïde stellen Verbindungen von Eiweissstoffen mit einem Kohlehydrat oder einem Kohlehydratderivat dar. Sie enthalten weniger Stickstoff und Kohlenstoff, dagegen mehr Sauerstoff als die Eiweissstoffe, reduciren nach dem Kochen mit Säuren beim Erhitzen Kupferoxyd in alkalischer Lösung, liefern bei der Spaltung keine Nucleïnbasen und sind phosphorfrei.

Allgemeine Eigenschaften. Sie reagiren sauer und bilden mit Alkalien in Wasser leicht lösliche Verbindungen. Der mit dem Eiweiss verbundene Paarling ist beim Chondromucoïd (§ 396) und Amyloïd (§ 406) Chondroïtinschwefelsäure (§ 180); bei den übrigen, bei denen eine Isolirung noch nicht gelungen ist, scheint es sich zum Theil auch um diese Säure, zum Theil um ein stickstoffhaltiges Polysaccharid von dem Charakter des Chitins zu handeln. Jedenfalls ist durch hydrolytische Spaltung aus verschiedenen Glykoproteïden Chitosamin, aus manchen ausserdem auch Essigsäure erhalten worden (Fr. Müller und seine Schüler[1]). Vergleiche auch das § 104 Gesagte. Die grösste Menge Chitosamin wird in der Regel durch dreistündiges Kochen mit 3 proc. Salzsäure erhalten.

Zu den Glykoproteïden gehören die Gruppe der Mucine, welche durch die fadenziehende Beschaffenheit ihrer natürlichen oder mit etwas Alkali hergestellten Lösungen, ihre Fällbarkeit durch Essigsäure und die Unlöslichkeit des durch Essigsäure hervorgerufenen Niederschlags in überschüssiger Essigsäure charakterisirt sind, ferner eine ganze Reihe von Stoffen, die in ihrem physikalischen Verhalten oder in Reactionen von den Mucinen, denen sie sonst ähnlich sind, abweichen und die als Mukoïde zusammengefasst werden, schliesslich das Amyloïd. Eine scharfe Trennung zwischen Mucinen und Mukoïden ist nicht zu machen.

Darstellung. 391. **Mucin der Submaxillardrüse** (Hammarsten[2]). Zu seiner Darstellung extrahirt man die fein zerhackte Drüse mit Wasser und versetzt das

[1]) Zeitschr. f. Biol. **42**. 468. (1901.)

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **12**. 163. (1888.)

Filtrat vorsichtig mit soviel starker Salzsäure, dass die Mischung 1,5 pM. Salzsäure enthält. Das hierbei zunächst gefällte Mucin löst sich beim Umrühren wieder auf, wird dann aber auf baldigen Zusatz von 2—3 Vol. Wasser gefällt. Es wird durch Abgiessen oder Filtration abgetrennt, wieder in 1,5 prom. Salzsäure gelöst und durch Wasserzusatz gefällt, mit Wasser gut gewaschen, mit Alkohol und Aether behandelt und getrocknet.

Eigenschaften und Zusammensetzung.

Weissliches Pulver von saurer Reaction und der Zusammensetzung: C 48,84; H 6,80; N 12,32; S 0,84 pCt. Es löst sich nicht in Wasser, aber wohl auf Zusatz einer Spur Alkali unter Bildung von Salz zu schleimiger Flüssigkeit. Diese Lösungen coaguliren nicht beim Kochen, geben auf Zusatz von Essigsäure einen in überschüssiger Essigsäure unlöslichen, zähen, gallertig schleimigen Niederschlag und werden auch durch Salze der Schwermetalle, bei Anwesenheit von Neutralsalzen auch durch Alkohol gefällt. Enthalten die Lösungen Kochsalz oder andere Neutralsalze, so ruft wenig Essigsäure keinen Niederschlag hervor. Solche saure Lösungen werden durch Ferrocyankalium nicht, aber durch Gerbsäure gefällt. Die Farbenreactionen der Eiweissstoffe fallen positiv aus (§ 280 B).

Zersetzungen.

Durch verdünnte Alkalien (auch durch Kalkwasser) wird es leicht verändert. Beim mehrstündigen Erhitzen der neutralen Lösung auf 110—150° entsteht eine Mucinalbumose neben Spuren einer reducirenden Substanz (Folin[1]). Bei der hydrolytischen Spaltung werden über 20 pCt. Chitosamin und Essigsäure gebildet; Furfurol und Lävulinsäure liessen sich nicht nachweisen (Fr. Müller). Ueber Versuche aus dem Submaxillarmucin Chondroïtinschwefelsäure darzustellen, siehe bei Levene[2]).

Darstellung.

392. **Mucin der Schleimhaut der Luftwege.** Zur Darstellung wird nach Fr. Müller glasiges, rein schleimiges und von Eiter und Speiseresten freies Sputum in Alkohol eingetragen und geschüttelt. Das Mucin wird dabei feinfaserig und bleibt beim Coliren durch ein grobes Tuch auf diesem, während zellige Elemente und fein krümeliges Eiweiss hindurchgeht. Durch Schütteln mit 0,5 proc. Salzsäure, sehr verdünnter Sodalösung und wiederum 0,5 proc. Salzsäure lässt es sich von Eiweiss und Nucleïnsubstanzen befreien. Es wird dann in möglichst dünner Natronlauge gelöst, die Lösung filtrirt, centrifugirt, mit Essigsäure angesäuert und mit Alkohol gefällt.

Eigenschaften und Zusammensetzung.

Zusammensetzung C 48,26; H 6,91; N 10,7; S ungefähr 1,4 pCt. Die wässerige Lösung ist opalescirend, reagirt sauer und wird auf Zusatz von etwas Alkali klar. In 0,1 proc. Salzsäure ist es nur sehr wenig löslich. Die Ausfällung durch Säure wird erst nach Zusatz von Alkohol vollständig. Sättigen mit Magnesiumsulfat ruft nur Trübung, Sättigung mit Ammonsulfat flockigen Niederschlag hervor, Bleiacetat bewirkt nur schwache Opalescenz.

Zersetzung.

Gegen sehr verdünnte Alkalien ist es nicht sehr empfindlich. Bei

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **23**. 347. (1897.) 2) Ebendas **31**. 395. (1901.)

der hydrolytischen Spaltung entsteht etwa 37 pCt. Chitosamin, ferner Essigsäure (Fr. Müller).

393. **Mucine der Schnecken** (Hammarsten[1]). a) Mantelmucin. Zu seiner Darstellung trägt man die beim Reizen der Manteloberfläche abgeschiedene, rahmähnliche (durch Calciumcarbonat bewirkt), zähe Masse in 0,01 proc. Kalilauge ein, fällt mit Essigsäure und reinigt das abgeschiedene Mucin durch Lösen in verdünnter Kalilauge und Fällen mit Essigsäure. Fällt man das Secret direct mit Essigsäure, so scheidet sich ein Mucinogen ab, welches in verdünntem Alkali zunächst unlöslich, erst allmählich durch Behandeln mit 0,1 proc. Kalilauge unter Umwandlung in Mucin in dieser löslich wird.

Zusammensetzung des Mucinogens: C 50,30; H 6,84; N 13,62; S 1,71 pCt.; des Mucins: C 50,34; H 6,84; N 13,67; S 1,79 pCt.

Das Mantelmucin stimmt in seinem Verhalten gegen Reagentien und in seiner Empfindlichkeit gegen Alkalien mit dem Submaxillarmucin überein.

b) Fussmucin wird erhalten durch Fällen des mit höchstens 0,1 proc. Kalilauge hergestellten Auszugs des Schneckenfusses mit Salzsäure. C 50,45; H 6,79; N 13,66; S 1,60. Es unterscheidet sich dadurch, dass seine kochsalzhaltigen Lösungen durch Essigsäure getrübt werden (vergl. § 391).

394. **Mucin des Nabelstrangs** (Jernström[2]) wurde durch Fällen des Kaltwasserauszugs zerkleinerter menschlicher Nabelstränge mit Essigsäure, Lösen des Niederschlags in Kalkwasser, Fällung mit Essigsäure und Behandeln mit Wasser, Alkohol und Aether dargestellt.

Darstellung.

395. **Sehnenmucin** (Loebisch[3]). Die zerkleinerten Sehnen (Achillessehne vom Rind) werden mit Kochsalzlösung extrahirt, mit Wasser gewaschen und mit Kalkwasser ausgezogen. Das Filtrat wird mit Salz- oder Essigsäure gefällt, der Niederschlag wieder in Kalkwasser gelöst, mit Essigsäure gefällt und mit Wasser, Alkohol und Aether behandelt.

Zusammensetzung.

Mittlere Zusammensetzung nach:	C	H	N	S
Loebisch	48,30	6,44	11,75	0,81 pCt.
Chittenden u. Gies[4])	48,76	6,53	11,75	2,33 „
Cutter u. Gies[5]) . .	48,04	6,67	12,47	2,20 „

Geringe Abweichungen in der Darstellung haben auf die Zusammensetzung der Präparate Einfluss, so dass man vielleicht die Anwesenheit mehrerer Mucine in der Sehne annehmen muss. Der von Loebisch gefundene Schwefelwerth scheint zu niedrig zu sein, denn er wurde in keinem andern Präparat wieder gefunden.

Eigenschaften.

Das Sehnenmucin unterscheidet sich dadurch von dem Submaxillarmucin, dass es in 1—2 prom. Salzsäure unlöslich ist und durch Kalkwasser

[1]) Arch. f. d. ges. Phys. **36**. 373. (1885.) [2]) Maly's Jahresb. 1880. S. 34.
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **10**. 40. (1886.)
[4]) Journ. of exp. Med. **1**. 186. (1896.)
[5]) Amer. Journ. of Physiol. **6**. 155. (1902.)

nicht leicht verändert wird. Ueber Versuche, aus dem Sehnenmucin Chondroïtinschwefelsäure zu gewinnen, siehe bei Levene (a. a. O.).

396. **Chondromukoïd** (C. Th. Mörner[1]). Extrahirt man fein zerkleinerten Knorpel bei 40° mit Wasser, fügt zu dem Filtrate Salzsäure bis zu 0,2—0,4 pCt. und erwärmt im Wasserbade, so scheidet es sich allmählich als weisser, flockiger Niederschlag aus und kann durch wiederholtes Auflösen in Wasser mit Hülfe einer Spur Alkali und Ausfällen mit einer Säure gereinigt werden. Darstellung.

Zusammensetzung C 47,30; H 6,42; N 12,58; S 2,42 pCt. Weisses Pulver von saurer Reaction, in Wasser unlöslich. Die mit Hülfe von Alkali hergestellte, neutrale Lösung wird durch Essigsäure und Mineralsäuren gefällt, ebenso durch Kupfersulfat, Bleiacetat, Eisenchlorid; nicht gefällt durch Gerbsäure, Sublimat, Silbernitrat. Zusammensetzung und Eigenschaften.

Durch Alkalien wird es in Alkalialbuminat und Chondroïtinschwefelsäure zersetzt. Zersetzung.

397. **Osseomukoïd** (Hawk u. Gies[2]). Zu seiner Darstellung extrahirt man die gereinigten und mit 0,2—0,4 proc. Salzsäure entkalkten Knochen (die Einzelheiten siehe im Original) mit halbgesättigtem Kalkwasser, fällt das Filtrat mit 0,2 proc. Salzsäure und reinigt den Niederschlag durch Decantation mit schwach salzsaurem und reinem Wasser sowie durch Wiederholung von Lösung und Fällung und durch Behandeln mit Alkohol und Aether. Darstellung.

Leichtes, weisses oder schwach cremefarbenes Pulver von saurer Reaction und der mittleren Zusammensetzung C 47,07; H 6,69; N 11,98; S 2,41 pCt. Es löst sich leicht in verdünnten Alkalien, auch in 0,05 proc. Sodalösung und 5 proc. Kochsalzlösung. Durch Säuren wird es gefällt. Biuret-, Millon's- und Xanthoproteïnprobe sehr scharf, Schwefelbleiprobe schwach (§ 280 B). Zusammensetzung und Eigenschaften.

Durch Kochen mit Säure wird Schwefelsäure und ein osazonbildendes Kohlehydrat abgespalten. Zersetzung.

398. **Corneamukoïd** (C. Th. Mörner[3]). Extrahirt man die von Descemet'scher Haut und Epithel befreite, fein zerhackte Cornea mit Wasser oder ganz schwachem Alkali und versetzt das (nicht fadenziehende) Filtrat mit Essigsäure, so fällt Corneamukoïd aus. C 50,16; H 6,97; N 12,79; S 2,07 pCt. In Wasser unlöslich, auf Zusatz von wenig Alkali sich lösend. Die Lösungen verhalten sich im Allgemeinen wie echte Mucinlösungen, sind aber nicht fadenziehend.

399. **Hyalomukoïd** (C. Th. Mörner[4]) wird erhalten, wenn man den zerschnittenen Glaskörper filtrirt und das Filtrat nach Verdünnen mit dem

---

[1]) Skand. Arch. f. Phys. **1.** 210. (1889.)
[2]) Amer. Journ. of Physiol. **5.** 387. (1901.)
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **18.** 213. (1894.) [4]) Ebendas. **18.** 244. (1894.)

2—3 fachen Vol. Wasser mit soviel Essigsäure versetzt, dass es ungefähr 1 pCt. enthält. N 12,27; S 1,19 pCt. Es verhält sich ebenso wie Corneamukoïd (§ 398).

Darstellung. 400. **Pseudomucin (Metalbumin*)** findet sich in den Ovarialcysten und lässt sich nach Hammarsten[1]) aus solchen Ovarialflüssigkeiten, die weisslich, sehr zähe und schleimig sind, durch Fällen mit Alkohol als faseriges, sich um den Glasstab windendes Gerinnsel ausfällen. Das Gerinnsel wird unter Alkohol fein zerrieben, durch Aether von Alkohol befreit und in Wasser gelöst. Die Lösung wird wieder mit Alkohol gefällt.

Zusammensetzung und Eigenschaften. Leichtes, weisses Pulver. C 49,44—50,05; H 6,84—7,11; N 10,26 bis 10,30; S 1,25; Asche 1,1—1,4 pCt. Es löst sich in Wasser zu opalisirender, schleimiger Flüssigkeit, in der Essigsäure Trübung, aber keine gute Fällung hervorruft. Mit Gerbsäure, Ferrocyankalium + Essigsäure, Salpetersäure entstehen dickflüssige Fällungen, mit bas. Bleiacetat entsteht flockiger, im Ueberschuss des Fällungsmittes löslicher Niederschlag.

Zersetzung. Beim Kochen mit Säure wird Chitosamin abgespalten (Zängerle[2]), Neuberg und Heymann[3]).

Darstellung. 401. **Paramucin** wurde von Mitjukoff[4]) eine Substanz genannt, die sich in manchen Ovarialcysten als feste, zitternde, hellgelbe und in Wasser unlösliche Gallerte findet. Die durch Behandeln mit salzsäurehaltigem Wasser zum Schrumpfen gebrachte, mit salzsäurehaltigem Alkohol, Alkohol und Aether behandelte Masse kann als weisses Pulver erhalten werden.

Zusammensetzung und Eigenschaften. Zusammensetzung C 51,76; H 7,76; N 10,70; S 1,09 pCt. Es ist in Wasser unlöslich, quillt in Alkali zunächst gallertig und löst sich im Ueberschuss. Die Lösungen verhalten sich ähnlich wie Mucinlösungen. Der durch Essigsäure hervorgerufene Niederschlag löst sich aber im Ueberschuss, ferner reducirt eine alkalische Lösung beim Erwärmen Kupferoxyd. Durch Einwirkung von Alkohol und Salzsäure, desgleichen durch die Verdauung verliert die Substanz diese letztere Eigenschaft, gewinnt sie aber nach dem Kochen mit Säure wieder (Leathes[5]). Farbenreactionen positiv (§ 280 B). Ueber das Paramucosin, welches Leathes aus dem Paramucin darstellte, siehe § 181.

Darstellung. 402. **Ovomukoïd.** Entfernt man aus einer Hühnereiweisslösung die Eiweisskörper durch Kochen unter Essigsäurezusatz, so lässt sich aus dem eiweissfreien Filtrate durch Sättigen mit Ammonsulfat oder nach mässiger

---

*) Das Metalbumin von Scherer ist mit dem Pseudomucin identisch, sein Paralbumin dagegen ein Gemenge von Pseudomucin und Eiweissstoffen. Verh. d. phys. med. Ges. in Würzburg. **2.** 214. (1852.) Sitzungsber. dieser Ges. 1864—1865.

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **6.** 194. (1882.)

2) Münch. med. Wochenschr. 1900. S. 414.

3) Beitr. z. chem. Physiol. u. Path. **2.** 201. (1902.)

4) Arch. f. Gynäk. **49.** 278. (1895.)

5) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **43.** 245. (1900.)

Concentration durch Fällen mit Alkohol das Ovomukoïd (Neumeister's Pseudopepton) abscheiden (Neumeister[1]), C. Th. Mörner[2]).

Die aschefreie Substanz enthält nach Mörner N 12,65; S 2,20 pCt., nach Zanetti[3]) C 48,85; H 6,92; N 12,46; S 2,22. pCt. Dieselben Werthe erhielten Osborne und Campbell[4]). $[\alpha]_D = -61$ bis $61,4^0$. Es ist in Wasser löslich. Beim Eindampfen der Lösung in der Wärme scheiden sich durchsichtige Häute ab und beim weiteren Eindampfen erstarrt die Masse zu einer durchsichtigen und beim Eintrocknen durchsichtige, gelbe Lamellen bildenden Gallerte. Häute, Gallerte und Lamellen haben ihre Löslichkeit in kaltem Wasser verloren, lösen sich aber in kochendem Wasser und die so erhaltene Lösung unterscheidet sich durch nichts von der ursprünglichen. Die wässerige Lösung wird weder durch Essigsäure noch durch die gewöhnlichen Eiweissfällungsmittel gefällt, nur Phosphorwolframsäure, Gerbsäure, Bleiessig und Ammoniak, Sättigen mit Ammonsulfat rufen Fällungen hervor. Von den Farbenreactionen (§ 280 B) fällt die Adamkiewicz'sche negativ aus. Zusammensetzung und Eigenschaften.

Bei der hydrolytischen Spaltung entsteht ungefähr 35 pCt. Chitosamin (Seemann[5]), Zanetti). Zersetzung.

403. **Mukoïd aus Blutserum** wurde von Zanetti (a. a. O.) aus Serum nach Entfernung der coagulablen Eiweissstoffe durch Alkoholfällung erhalten. C 47,60; H 7,10; N 12,93; S 2,38 pCt. Gegen Fällungsmittel verhält es sich dem Ovomukoïd (§ 402) sehr ähnlich. Beim Kochen mit verd. Säure wird Schwefelsäure abgespalten.

404. **Mukoïd aus Ascitesflüssigkeiten** wurde von Hammarsten[6]) dargestellt. Paijkull[7]) gewann es auch aus pleuritischen Exsudaten und Hydroceleflüssigkeiten. Die durch Kochen nach Essigsäurezusatz enteiweissten Flüssigkeiten wurden neutralisirt, eingeengt, mit Alkohol gefällt, die Niederschläge in Wasser gelöst, die Lösungen dialysirt und mit Essigsäure gefällt. Der Niederschlag besteht aus Mukoïd. Aus dem Filtrat scheidet sich nach der Neutralisation auf Zusatz von Alkohol die Mucinalbumose ab, welche sich stets in viel reichlicherer Menge findet als das Mukoïd.

Das Mukoïd C 51,40; H 6,80; N 13,01 pCt. (S nicht bestimmt) ist in Wasser unlöslich, löst sich auf Zusatz von sehr wenig Alkali zu einer nicht schleimigen Flüssigkeit. Essigsäure fällt es und löst es erst wieder in grossem Ueberschuss. Die Mucinalbumose C 49,79; H 6,96; N 11,42 pCt. (S nicht bestimmt) verhält sich wie eine Albumose. Mukoïd. Mucinalbumose.

---

1) Zeitschr. f. Biol. **27**. 369. (1890.)
2) Zeitschr. f. physiol. Chem. **18**. 525. (1894.)
3) Cit. nach Maly's Jahresber. 1897. S. 31.
4) Journ. of the Amer. chem. Soc. **22**. 422. (1900.)
5) Diss. Marburg 1898.
6) Zeitschr. f. physiol. Chem. **15**. 202. (1891.)
7) Maly's Jahresber. 1892. S. 558.

405. **Harnmukoïd**[1]) ist in der Nubecula des Harns enthalten (K. A. H. Mörner[1]). Mittlere Zusammensetzung: C 49,40; N 12,74; S 2,30 pCt. Es löst sich in schwachem Ammoniak und wird durch Essigsäure gefällt. Gegenwart von Salzen verhindert oder verzögert die Fällung; im Ueberschuss der Essigsäure oder einer andern Säure löst sich der Niederschlag. Es stimmt in vieler Beziehung mit dem Ovomukoïd des Hühnereis (§ 402) überein. $[\alpha]_D = -62$ bis $67,1^0$. Beim Erwärmen mit alkalischer Kupferlösung reducirt es schwach, nach dem Kochen mit Säure reducirt es langsam, aber stark. Schwefelsäure wird dabei nicht abgespalten.

Vorkommen. 406. **Amyloïd.** Mit dem Namen amyloïde Substanz hat Virchow einen Körper bezeichnet, der nur pathologisch in feinen concentrisch-schaligen Körnchen häufig an dem serösen Ueberzuge der Hirntheile und Nervenanfänge oder als glasglänzende Infiltration in den verschiedensten Organen, Leber, Milz, Nieren u. s. w. Ablagerungen bildet, sich oft dabei als Infiltration der Blutgefässwandungen zeigt und meist einen wesentlichen Theil der Prostatasteinchen ausmacht. Nach Krawkow[2]) findet sich auch normaler Weise Amyloïd oder eine ihm sehr nahe stehende Substanz in der Arterienwand (Aorta).

Nach Krawkow ist das Amyloïd als eine feste (vielleicht esterartige), in schwachen Alkalien und Säuren unlösliche Verbindung von Chondroïtinschwefelsäure mit einer Eiweisssubstanz anzusehen. Nachweis. Bei Anwesenheit von Amyloïd tritt auf Zusatz von Jod röthlich braune bis violette, von Jod und Schwefelsäure violette bis blaue, von Methylviolett schöne rothe oder röthliche Färbung ein.

Darstellung. Die Darstellung reinen unveränderten Amyloïds ist bisher nicht gelungen. Man verfährt nach Krawkow in folgender Weise: Das von der Kapsel und grössern Gefässen möglichst befreite und zerkleinerte Organ wird nach der Extraction mit kaltem Wasser und schwacher Ammoniakflüssigkeit durch ein feines Drahtnetz zerrieben und die zerriebene Masse so lange mit schwachem Ammoniak (zur Entfernung von locker gebundener oder freier Chondroïtinschwefelsäure, Glykogen, Nucleïnsubstanzen u. s. w.) ausgewaschen, bis die Waschflüssigkeit keine Reaction auf Chondroïtinschwefelsäure (§ 180) mehr giebt, dann mit Wasser gewaschen und mehrere Tage mit Magensaft verdaut. Der unverdaute Rückstand wird mit schwacher Salzsäure und Wasser gewaschen und nun mit sehr schwachem Ammoniak behandelt, worin sich jetzt, nach der Verdauung, das Amyloïd löst. In der filtrirten Flüssigkeit ruft verdünnte Salzsäure eine flockige oder gallertige Fällung hervor, die durch Decantation mit Wasser gewaschen und dann mit Barytwasser im Ueberschuss behandelt wird. Die Barytlösung

---

1) Skand. Arch. f. Physiol. **6**. 332. (1895.)

2) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **40**. 195. (1898.)

wird abfiltrirt, mit Salzsäure gefällt und der Niederschlag mit Wasser, Alkohol und Aether gewaschen.

Das auf diese Weise erhaltene farblose Product ist ein durch die Verdauung verändertes Amyloïd, das im Gegensatz zu dem ursprünglichen in schwachen Alkalien löslich ist. C 48,9—50,4; H 6,6—7,0; N 13,8—14,1; S 2,65—2,9 pCt. Es zeigt regelmässig die Methylviolettreaction, aber durchaus nicht immer die Jod- und Jodschwefelsäurereaction (siehe oben). Diese Jodreactionen, welche nicht von der chemischen Natur des Amyloïds, sondern von seiner physikalischen Beschaffenheit abzuhängen scheinen, werden auch zuweilen an den amyloïden Organen vermisst. Zusammensetzung und Eigenschaften.

Durch das Verfahren mit Kupferacetat und Kalilauge (§ 180) lässt sich aus diesem isolirten Amyloïd Chondroïtinschwefelsäure darstellen. Abspaltung von Chondroïtinschwefelsäure.

---

407. **Helicoproteïd** wurde von Hammarsten[1]) aus dem Wasserauszug der Eiweissdrüse von Helix pomatia durch Versetzen mit Essigsäure als ein in überschüssiger Essigsäure unlöslicher Niederschlag erhalten. C 46,99; H 6,78; N 6,08; S 0,62; P 0,47; Asche 1,0 pCt. Es ist ein Phosphoglykoproteïd, welches bei der Pepsinverdauung ein Paranucleïn abspaltet und bei der Behandlung mit Alkali in Alkalialbuminat und Sinistrin (§ 102) gespalten wird. Phosphoglykoproteïd.

Fermente (Enzyme).

408. Ueber die chemische Natur der Fermente ist nichts Sicheres bekannt. Im Allgemeinen werden sie als Proteïnkörper oder den Proteïnkörpern nahestehende Substanzen angesehen. Für manche scheint ihre Proteïnnatur festgestellt zu sein z. B. für das Pepsin. Von andern sind sehr wirksame Lösungen hergestellt worden, welche die Eiweissreactionen nur undeutlich oder gar nicht geben; indessen ist an die Möglichkeit zu denken, dass diese Reactionen nur wegen zu starker Verdünnung versagten. Etwas Bestimmtes über die chemische Beschaffenheit der Fermente ist zur Zeit nicht auszusagen. Characteristisch für sie sind nur ihre specifischen Wirkungen. Sie lassen sich durch Wasser oder Glycerin den Geweben entziehen, diffundiren nicht, werden durch Ammonsulfat ausgesalzen und haben die Eigenschaft aus ihren Lösungen durch Niederschläge mitgerissen und durch Alkohol gefällt zu werden. Auf diesen Eigenschaften beruhen die Methoden ihrer Isolirung. Bei Körpertemperatur oder etwas darüber wirken sie am Besten. Die Temperatur, bei der sie in wässriger Lösung zerstört werden, ist bei den einzelnen Fermenten etwas verschieden, auch je nach der Reaction schwankend; doch vernichtet ein Erhitzen der Lösung auf 80° wohl in allen Fällen die Wirksamkeit. Im trocknen Zustande vertragen sie eine weit höhere Erhitzung. Allgemeine Eigenschaften.

---

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. **36**. 428. (1885.)

Vorkommen. **409. Pepsin.** Das Ferment, welches bei Gegenwart von Salzsäure Eiweissstoffe verdaut, findet sich im Magensaft der Wirbelthiere u. z., soweit die Untersuchungen reichen, aller Wirbelthiere mit Ausnahme einiger Fische. Es wird von den Drüsen der Magenschleimhaut (hauptsächlich den Zymogen. Fundusdrüsen) in Form eines unwirksamen Zymogens (Pepsinogen, Propepsin) secernirt. Die Umwandlung in die active Form erfolgt sofort durch die Salzsäure des Magensaftes. Pepsin ist auch im Harn nachgewiesen worden.

Darstellung des Propepsins. Das von Ebstein u. Grützner entdeckte Zymogen wurde von Langley[1]) und neuerdings von Glaessner[2]) untersucht. Zur Darstellung einer Propepsinlösung wird nach Glaessner die gereinigte, feinzerhackte Schweinemagenschleimhaut mit der doppelten Menge Wasser versetzt und nach Zufügen von Soda bis zur deutlich alkalischen Reaction und von Toluol 3 bis 4 Wochen bei 40° stehen gelassen. Man versetzt nun die filtrirte Flüssigkeit mit Kochsalz bis zu 1 pCt., fügt Essigsäure hinzu, filtrirt, macht mit Soda schwach alkalisch und fällt mit Uranylacetat. Der dickflockige Niederschlag, welcher die Vorstufen des Pepsins und Labs enthält, wird centrifugirt und mit kleinen Mengen schwach sodahaltigen Wassers ausgezogen und Fällung und Extraction wiederholt. Fügt man der so erhaltenen (durch Einengen bei 40° conc.) Lösung Natriumphosphat und die entsprechende Menge Uranylacetat hinzu, so reisst der entstehende Niederschlag das Propepsin mit nieder, während das Prochymosin im Filtrat sich findet. Die durch Ausziehen des Niederschlags mit schwach alkalischem Wasser erhaltene Lösung ist ganz unwirksam gegen Eiweissstoffe, wird aber auf Zusatz von verd. Salzsäure durch Umwandlung des Propepsins in Pepsin wirksam. Gegen Soda bis zu 0,5 pCt. ist sie widerstandsfähig, während Pepsin in 0,5 proc. Sodalösung zerstört wird (Langley). Im Uebrigen stimmt eine Propepsinlösung in vieler Beziehung mit einer Pepsinlösung überein, siehe darüber bei Glaessner.

Darstellung des Pepsins. Zur Darstellung von Pepsin benutzt man nach Pekelharing[3]) den Magensaft, welchen nach Pawlow mit Oesophagus- und Magenfistel versehene Hunde bei der sog. Scheinfütterung liefern und verfährt in folgender Weise: Der gesammelte und sofort filtrirte, farblose Magensaft wird etwa 20 Stunden lang bei einer wenig über 0° gelegenen Temperatur gegen destillirtes Wasser dialysirt, die trübe Flüssigkeit centrifugirt, der Bodensatz nach Abgiessen des grösseren Theiles der überstehenden Flüssigkeit auf kleinem Filter gesammelt, mit wenig Wasser gewaschen und im Exsiccator getrocknet. Um aus dem Filtrat weitere Mengen zu erhalten, sättigt man dasselbe halb mit Ammonsulfat, befreit den entstandenen Niederschlag durch Dialyse von Salz, löst ihn bei 37° in möglichst wenig 0,2 proc. Salzsäure, dialysirt die filtrirte Lösung und verfährt weiter wie oben angegeben. Das auf letztere Weise erhaltene Präparat stellt ein noch reineres dar, insofern es vollkommen frei von einer phosphorhaltigen Beimengung ist. Statt des Magensaftes wurde von Pekelharing zur Dar-

---

1) Journ. of Physiol. **3**. 269. (1881.)
Langley u. Edkins, Ebendas. **7**. 371. (1886.)
2) Beitr. z. chem. Physiol. u. Path. **I**. 1. (1902.)
3) Zeitschr. f. physiol. Chem. **22**. 233. (1897.) u. **35**. 8. (1902.)

stellung auch das durch fünftägige Digestion mit 0,5 proc. Salzsäure bei 37° hergestellte und unter vermindertem Druck filtrirte Extract der zerkleinerten Fundusmucosa des Schweinemagens benutzt. Doch ist das auf diese Weise erhaltene Präparat weniger rein. Dasselbe gilt von dem Pepsin, welches beim Abkühlen des nach Pawlow gewonnenen Magensaftes sich abscheidet[1]).

Zusammensetzung. Das so erhaltene Pepsin ist ein Proteïnstoff besonderer Art von der Zusammensetzung C 51,99; H 7,07; N 14,44; S 1,63 (auf aschefreie Substanz berechnet); es enthält ferner Chlor (0,49 pCt.) und Eisen.

Eigenschaften. Es stellt ein farbloses Pulver dar, in Wasser nicht merkbar löslich (frisch mittelst Dialyse gefällt ist es in Wasser einigermaassen löslich), aber in verdünnter Kochsalzlösung. In verdünnten Säuren z. B. in 0,2 proc. Salzsäure wird es, am Besten bei Körpertemperatur, zu wasserklarer Flüssigkeit gelöst; bei Verringerung des Säuregehaltes z. B. durch Diffusion scheidet es sich zum Theil u. z. in Form durchsichtiger Kügelchen wieder ab. In Salzsäure löst es sich am Wenigsten, wenn sie 0,02 pCt. HCl enthält. Das Pepsin giebt die Eiweissreactionen, zeigt Linksdrehung und wird durch Halbsättigung mit Ammonsulfat aus seinen Lösungen abgeschieden. Es ist eine sehr labile Substanz, die nicht nur in schwacher Alkali- oder Sodalösung, sondern schon durch Waschen mit Alkohol und allmählich auch in salzsaurer Lösung ihre fermentativen Eigenschaften verliert. Unter Ammonsulfatlösung aufbewahrt hält sie sich lange unverändert.

Veränderung durch Wärme. Beim schnellen Erhitzen seiner sauren Lösung findet Gerinnung statt, bei 60° beginnt die Lösung sich zu trüben. Beim langsamen Erhitzen selbst bis zur Siedetemperatur kann sie völlig klar bleiben u. z. um so leichter, je weniger Säure sie enthält, aber die Fähigkeit fermentativ zu wirken geht auch in diesem Fall beim längeren (viertelstündigen) Erwärmen auf 60° verloren. Ueber die Untersuchung des Gerinnungsproductes, welches in Säure unlöslich und in Alkali leicht löslich ist, siehe bei Pekelharing.

Zersetzung. Bei der hydrolytischen Spaltung werden Pentose[2]) (Pentosereactionen, Reductionsvermögen, krystallisirendes Osazon) und Xanthin (vielleicht auch andere Nucleïnbasen) abgespalten.

Fermentwirkung. Das Pepsin ist sehr wirksam, noch 0,001 mg in 6 ccm 0,2 proc. Salzsäure gelöst bringt in 20 Stunden eine Fibrinflocke in Lösung. Es vermag ausserdem bei neutraler Reaction Milch zur Gerinnung zu bringen und in conc. Albumoselösungen eine Fällung von Plasteïn (§ 301) zu bewirken. Durch Pepsinsalzsäure entstehen aus Eiweiss Acidalbumin, Propeptone und Peptone. Die weitere Spaltung (§ 279) in kleinere Moleküle (Aminosäuren u. s. w.) erfolgt

---

1) Schoumow-Simanowsky, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm. **33**. 336. (1894.) Nencki u. Sieber, Zeitschr. f. physiol. Chem. **32**. 291. (1901.)

2) Friedenthal, Arch. f. Anat. u. Physiol. Physiol.-Abthlg. 1900. S. 181.

sehr viel langsamer als durch Trypsin. Die Tryptophanreaction (§ 215) tritt zuweilen schon nach Stunden auf, krystallinische Spaltungsproducte sind aber wohl stets erst nach Wochen oder Monaten in nachweisbarer Menge gebildet. Es scheint, dass dem Pepsin durch gewisse mit manchen Reinigungsverfahren verbundene Eingriffe die Fähigkeit zu tiefer greifender Spaltung verloren gehen kann. Ueber die Veränderung, welche andere Proteïnstoffe durch Pepsinsalzsäure erfahren, siehe das bei diesen Gesagte.

Wirkung auf andere Proteïnstoffe.

Nachweis.

Der Nachweis des Pepsins beruht ausschliesslich auf seiner Eigenschaft Eiweiss bei Gegenwart von Salzsäure zu verdauen.

Um Pepsin im Harn nachzuweisen, empfiehlt Neumeister durch den Harn, dem einige Fibrinflocken zugefügt sind, einige Stunden einen schwachen Luftstrom zu leiten, die Flocken dann mit Wasser zu waschen, in 0,2 proc. Salzsäure zu suspendiren und die Flüssigkeit nach einiger Zeit auf Verdauungsproducte zu prüfen.

Bestimmung der relativen eiweissverdauenden Kraft.

410. Die Bestimmung der relativen eiweissverdauenden Kraft von Pepsinlösungen beruht auf dem von E. Schütz[1]) gefundenen Gesetz, dass die Mengen der in einer bestimmten Zeit gebildeten Verdauungsproducte innerhalb bestimmter Grenzen den Quadratwurzeln aus den relativen Pepsinmengen proportional sind. Die Ausführung geschieht am Einfachsten mit Hülfe des Verfahrens von Mett[2]). Mit Hühnereiweiss vollgesogene Glasröhrchen von 1—2 mm lichter Weise werden auf 95° erhitzt und nach erfolgter Coagulation des Eiweiss in Stückchen von 1—2 cm Länge zerschnitten. Man bringt solche Stückchen in die zu prüfende Flüssigkeit und hält die Proben etwa zehn Stunden bei Bruttemperatur. Nach dieser Zeit wird mit Hülfe einer Loupe die Länge der gelösten Eiweisssäule in Millimetern und deren Bruchtheilen gemessen. Die in den zu vergleichenden Flüssigkeiten vorhandenen Pepsinmengen verhalten sich wie die Quadrate der Millimeter Eiweisssäule, die in gleicher Zeit gelöst sind (Borissow[2]). Man erfährt also die relativen Pepsinmengen durch Quadrirung der Länge der verdauten Eiweisssäulen.

Für sehr verdünnte Pepsinlösungen (z. B. sehr verdünnten Magensaft, wie man ihn bei klinischen Untersuchungen bekommt) eignet sich das Verfahren nach den Untersuchungen von J. Schütz[3]) nicht. Siehe auch die Kritik des Mett'schen Verfahrens von E. Schütz u. Huppert[4]). Genauere, aber weniger einfache Methoden, sind von E. Schütz[1 u. 4]) und J. Schütz angegeben.

Darstellung peptischer Verdauungsflüssigkeit.

411. Darstellung peptischer Verdauungsflüssigkeit. Zur Untersuchung der verdauenden Eigenschaften des Pepsins bedarf es nicht der Darstellung eines reinen Präparates; man kann vielmehr den nach Pawlow gewonnenen oder einen sogenannten künstlichen Magensaft benutzen. Um letzteren zu bereiten, wäscht man die abpräparirte

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. 9. 577.

2) Siehe bei Pawlow, Die Arbeit der Verdauungsdrüsen. Wiesbaden 1898. S. 31.

3) Zeitschr. f. physiol. Chem. 30. 1. 4) Arch. f. d. ges. Physiol. 80. 470. (1900.)

Schleimhaut des Fundustheils eines Magens vom Schwein, Kalb (oder von einem andern Thiere) mit Wasser, zerschneidet sie in kleine Stücke und extrahirt in der Kälte und unter öfterem Umrühren nach einander und je einige Stunden mit Portionen verdünnter Salzsäure (4—8 ccm rauchende Salzsäure auf 1 Liter Wasser). Von einem Schweinemagen erhält man so einen bis mehrere Liter sehr guter Verdauungsflüssigkeit, die sich allerdings nur einige Tage hält. Haltbarer ist ein Glycerinauszug der fein zerkleinerten Magenschleimhaut; der im Filtrat durch Alkohol hervorgerufene Niederschlag stellt ein unreines, aber ziemlich wirksames Ferment dar. Am Einfachsten ist es, eines der käuflichen Pepsinpräparate zu benutzen; sie liefern zu etwa 0,2 g in 500 ccm 0,2 bis 0,3 proc. Salzsäure gelöst eine gute Verdauungsflüssigkeit.

412. Untersuchung eines peptischen Verdauungsgemisches. Eine scharfe Isolirung der einzelnen Verdauungsproducte ist noch nicht möglich. Es soll hier nur angegeben werden, wie man die drei Hauptgruppen der peptischen Verdauungsproducte, das Acidalbumin, die Propeptone und die Peptone von einander trennt und nachweist. Untersuchung eines peptischen Verdauungsgemisches.

Eiweiss, z. B. etwa 100 g von Blutfarbstoff durch Waschen mit Wasser befreites und stark ausgepresstes Fibrin, wird in einem Kolben mit 500 ccm einer der § 411 besprochenen Verdauungsflüssigkeiten übergossen und nach Zusatz von etwas Chloroform oder Toluol in den Brutschrank gestellt. Das Fibrin quillt auf und geht allmählich in Lösung. Nach etwa 2 Tagen wird ein Theil der Flüssigkeit filtrirt und das klare Filtrat mit Sodalösung neutralisirt. Der entstehende Niederschlag besteht aus Acidalbumin*) und Acidalbumin. wird nach § 298 als solches identificirt. Die Hauptmenge der Flüssigkeit wird colirt, das Filtrat mit Sodalösung neutralisirt und wieder filtrirt. Man säuert jetzt mit Essigsäure schwach an, erhitzt zum Kochen, filtrirt, dampft auf etwa 100 ccm ein und sättigt, nachdem etwa erfolgte Ausscheidungen durch Filtration entfernt worden sind, mit Ammonsulfat. Der dabei entstehende Niederschlag (a) besteht aus Propeptonen, das Filtrat (b) enthält Pepton. Den Niederschlag (a) wäscht man durch Zerreiben mit gesättigter Ammonsulfatlösung aus, filtrirt, löst ihn dann in Wasser und kocht die Lösung mit überschüssigem Bariumcarbonat unter Ersatz des verdampften Wassers bis sich kein Ammoniak mehr entwickelt und sich in einer filtrirten Probe keine Schwefelsäure mehr nachweisen lässt. Nun wird filtrirt und etwa vorhandenes Barium durch Zusatz von Ammoniak und Ammoniumcarbonat (Salkowski) ausgefällt. Das Filtrat, welches also weder mit Chlorbarium noch mit Schwefelsäure eine Trübung geben darf, wird eingedampft

*) Dasselbe wird in weit reichlicherer Menge erhalten, wenn die Verdauung bald nach eingetretener Lösung unterbrochen wird. Bei weit vorgeschrittener Verdauung tritt kein Niederschlag mehr ein.

und mit Alkohol gefällt. Der Niederschlag, durch Alkohol von Wasser, Propeptone. durch Aether von Alkohol befreit, stellt ein Gemenge verschiedener Propeptone dar. Seine Lösung giebt die sog. Albumosereactionen:

Albumosereactionen.

1. keine Fällung beim Kochen;

2. auf Zusatz des gleichen Vol. gesättigter Kochsalzlösung + Essigsäure Niederschlag, der beim Erwärmen verschwindet, um beim Erkalten wiederzukehren;

3. auf Zusatz von etwas Kochsalzlösung und conc. Salpetersäure Niederschlag, der auf weitern Salpetersäurezusatz und ebenso beim Erwärmen verschwindet.

4. auf Zusatz von Kupferacetat und ebenso von Ferrocyankalium + Essigsäure Niederschläge, die beim Erwärmen mehr oder weniger vollständig verschwinden;

5. Biuretreaction mit rothvioletter Farbe (§ 280, 8).

Von dem Filtrate (b) wird eine kleine Probe nach Zusatz von viel starker Natronlauge auf die Biuretreaction geprüft. Fällt sie sehr schwach aus, so hat sich nur wenig Pepton gebildet und man untersucht nicht weiter. Fällt sie stark positiv aus, so ist dadurch die Anwesenheit von Pepton noch nicht bewiesen, da kleine Mengen von Deuteroalbumosen der Fällung mit Ammonsulfat entgangen sein können. Zu ihrer Entfernung behandelt man das Filtrat nach § 312. Die wässrige Lösung des dabei Pepton. erhaltenen Peptons giebt von den oben angeführten Reactionen nur die Reaction 5 und diese mit rosen- bis purpurrother Farbe.

Vorkommen. 413. **Trypsin**, ein Ferment, welches am besten bei alkalischer (0,3 bis 0,4 proc. Soda), aber auch bei neutraler und schwach saurer Reaction Eiweissstoffe verdaut, findet sich im Pancreassaft. Die Pancreasdrüse, frisch vom Thier entnommen, enthält wenig oder kein Trypsin, sondern ein Zymogen, das beim Liegen der Drüse an der Luft, durch Einwirkung von Alkohol, schwachen Säuren oder auch Wasser in das wirksame Ferment übergeht.

Darstellung. Möglichst rein erhält man es nach folgendem von Kühne[1]) angegebenen Verfahren: Frisches Pancreas wird noch warm mit Glaspulver und absolutem Alkohol zerrieben, der Niederschlag mit eiskaltem Wasser behandelt, die Lösung mit Alkohol gefällt, Lösung und Fällung wiederholt und der Niederschlag lange mit wasserfreiem Alkohol behandelt. Man löst jetzt wieder in Wasser, fügt Essigsäure bis zu 1 pCt. hinzu, filtrirt, erwärmt das Filtrat einige Zeit auf 40°, filtrirt und macht die wieder erwärmte Flüssigkeit deutlich alkalisch. Nach Entfernung des Niederschlags wird bei 40° eingedunstet, um das Tyrosin zur Abscheidung zu bringen, und darauf dialysirt, um Pepton, Leucin und andere Stoffe zu entfernen. Das schliesslich zurückbleibende Trypsin wird durch wiederholte Fällung mit Alkohol gereinigt.

[1]) Verh. d. naturh. med. Ver. zu Heidelberg. N. F. I. 194. (1876.)

Durch Eindunsten der Lösung bei 40° gewonnen, stellte es einen schwach strohgelb gefärbten, durchsichtigen Körper dar, der zu einer leichten, wolligen Masse aufbröckelte. Es ist in Wasser leicht löslich, in reinem Glycerin nicht löslich. Durch Alkohol wird es aus wässriger Lösung leichter gefällt als Pepton. Beim Kochen seiner sauren Lösung zerfällt es in coagulirendes Eiweiss und Pepton. Durch stärkere Alkalien wird es schnell zerstört. Eigenschaften

Seine Einwirkung auf Eiweissstoffe besteht in der Bildung von Propeptonen u. z. Deuteroalbumosen und von Pepton und weiterhin in der völligen Spaltung in kleinere Moleküle (Ammoniak, Mono- und Diaminosäuren, Tryptophan u. s. w. § 279). Fest gebundener Stickstoff wird nicht in locker gebundenen umgewandelt[1]) (Unterschied von dem proteolytischen Ferment der Gewebe § 417). Ueber die Einwirkung des Trypsins auf andere Proteïnkörper siehe diese. Fermentwirkung. Einwirkung auf andere Proteïnkörper.

414. Darstellung tryptischer Verdauungsflüssigkeit. Man zerkleinert die Pancreasdrüse nach 24stündigem Liegen an der Luft, extrahirt sie bei Körpertemperatur einige Tage mit Chloroform- oder Toluolwasser, filtrirt und fügt zu dem Filtrat 0,5 pCt. Soda. Ein sehr wirksames und haltbares, aber unreines Präparat ist das sog. Trockenpancreas nach Kühne, zu dessen Darstellung man die Drüse nach 24stündigem Liegen an der Luft rein präparirt, zerkleinert, mit absolutem Alkohol von Wasser befreit, mit Aether extrahirt, zerreibt und durch ein feines Sieb gehen lässt. Fügt man von diesem Pulver etwa 0,2 g zu 500 ccm einer etwa 0,5 proc. Sodalösung, so erhält man eine gute Verdauungsflüssigkeit; statt des Trockenpancreas kann man auch eines der käuflichen Trypsinpräparate benutzen. Darstellung tryptischer Verdauungsflüssigkeit.

415. Untersuchung eines tryptischen Verdauungsgemisches. Mit 500 ccm einer nach § 414 hergestellten Flüssigkeit übergiesst man in einem Kolben befindliches Eiweiss (etwa 100 g gut ausgewaschenes und stark ausgepresstes Fibrin), fügt reichlich Chloroform oder Toluol zur Verhinderung der Fäulniss hinzu und stellt den Kolben in den Brutschrank. Es erfolgt bald Lösung ohne voraufgegangene Quellung. Bald nach eingetretener Lösung wird die eine Hälfte mit Essigsäure ganz schwach angesäuert, aufgekocht, filtrirt, eingeengt und weiter in der § 412 beschriebenen Weise auf Propeptone und Peptone untersucht. Die andere Hälfte bleibt mindestens 2—3 Tage unter häufigem Umschütteln im Brutschrank, jedenfalls so lange, bis eine herausgenommene Probe eine sehr intensive Reaction auf Tryptophan bezw. die Säure $C_{11}H_{12}N_2O_2$ (§ 215) (Violettfärbung auf Zusatz von Bromwasser) giebt. Man erhitzt dann nach Zufügen von Essigsäure bis zur schwach sauren Reaction zum Kochen, filtrirt, fällt mit basischem Bleiacetat, befreit das Filtrat durch Schwefelwasserstoff vom Blei, Untersuchung eines tryptischen Verdauungsgemisches. Propeptone, Peptone.

[1]) Mochizuki, Beitr. z. chem. Physiol. u. Path. I. 44. (1902.)

Tyrosin, Leucin. filtrirt wieder und dampft ein. Es scheiden sich Tyrosin und Leucin krystallinisch (S. 233 und S. 171 oben) aus, deren Trennung nach § 155 versucht werden kann. Um noch andere Aminosäuren und Diaminosäuren zu isoliren, verwendet man grössere Mengen Fibrin, setzt zweckmässig die Verdauung sehr lange fort, bis die Biuretreaction ganz oder fast ganz verschwunden ist, und verfährt dann nach den Angaben von Kutscher[1]).

Vorkommen. 416. **Erepsin**, ein Ferment, welches Peptone leicht und schnell in Amino- und Diaminosäuren bis zum Verschwinden der Biuretreaction zerlegt, wurde von O. Cohnheim[2]) in der Darmschleimhaut nachgewiesen.

Isolirung. Er stellte eine Lösung dieses Ferments dar durch Versetzen von 2 Theilen des wässrigen Auszugs der Schleimhaut des Hundedarms mit 3 Theilen gesättigter Ammonsulfatlösung, Dialysiren des abfiltrirten und in Wasser suspendirten Niederschlages und Filtriren.

Fermentwirkung. Es wirkt in schwach alkalischer oder neutraler, nicht in schwach saurer Lösung. Es spaltet auch Albumosen und Clupeïn vollständig bis zum Verschwinden der Biuretreaction, desgleichen Caseïn, native Eiweissstoffe aber gar nicht, ebenso wenig Globin und den Bence Jones-schen Eiweisskörper.

Unter den durch Erepsin erhaltenen Spaltungsproducten wurden nachgewiesen: Ammoniak, Leucin, Tyrosin, Lysin, Histidin und Arginin, kein Tryptophan. Festgebundener Stickstoff wird nicht in locker gebundenen umgewandelt.

417. **Proteolytisches Ferment der Gewebe**, welches Proteïnstoffe in erheblichem Umfang zerlegt, wurde zuerst von Salkowski[3]) in den Organen nachgewiesen. Er fand, dass bei der mehrtägigen Digestion von fein zerhacktem Gewebe (Leber, Muskeln) in Chloroformwasser bei Bruttemperatur eine reichliche Bildung von Leucin, Tyrosin und Nucleïnbasen auftritt, während Peptone gar nicht und Propeptone, wenn überhaupt, nur in geringer Menge entstehen (Autodigestion, Autolyse). Jacoby[4]) beobachtete bei diesem Process auch das Auftreten von Ammoniak und die Umwandlung von fest gebundenem in locker gebundenen Stickstoff, gelegentlich auch die Bildung von Tryptophan und wahrscheinlich von Glykocoll. Er stellte ferner fest, dass auch in aseptisch entfernten und bei Bruttemperatur aufbewahrten Organstückchen (Leber) die Bildung von Tyrosin vor sich geht und dass das Ferment in der Leber phosphorvergifteter Hunde in vermehrter Menge vorhanden ist.

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **25**. 195. (1898), **26**. 110. (1899), **28**. 88. (1899.)

2) Ebendas. **33**. 451. (1901), **35**. 134. (1902.)

3) Zeitschr. f. klin. Med. **17**. Supplb. 77.
Schwiening, Arch. f. pathol. Anat. **136**. 444. (1893.)
Biondi, Ebendas. **144**. 373. (1896.)

4) Zeitschr. f. physiol. Chem. **30**. 149 u. 174. (1900), **33**. 126. (1901.)

Proteolytische Fermente wurden ferner von Okerblom[1]) in den Nebennieren, von Hedin u. Rowland[2]) in Milz, Lymphdrüsen und Nieren, von Jacoby in der Lunge, von Kutscher[3]) in der Thymusdrüse und von Petry[4]) in malignen Tumoren beobachtet.

Jacoby gelang es, das Ferment einigermassen zu isoliren, indem er den Auszug von 14 Tage digerirtem Lebergewebe mit Ammonsulfat sättigte. Der Niederschlag wirkte deutlich verdauend auf Leberbrei.

418. **Labferment (Chymosin)**, welches Milch oder kalkhaltige Caseïnlösungen bei neutraler oder auch sehr schwach alkalischer Reaction zur Gerinnung bringt, findet sich im Magensaft und in der gesunden Schleimhaut des Magens (besonders des Fundustheils) vom Menschen, Hund, Kalb, Schaf, Schwein (wahrscheinlich auch der meisten andern Säugethiere), allerdings, wie es scheint, oft erst aus einem Zymogen (Prochymosin) durch Einwirkung von Säure sich bildend. In der Schleimhaut vom Kalb und Schaf ist es vorgebildet und durch Wasser in wirksamem Zustande extrahirbar. Beim Menschen fehlt es bei starker Degeneration der Magenschleimhaut. Nach Edmunds[5]) kommt eine schwache Labwirkung den verschiedensten Organen zu. Vorkommen. Prochymosin.

Das Labzymogen wurde zuerst von Hammarsten[6]) beobachtet, dann von Lörcher und zuletzt von Glaessner untersucht. Nach Glaessner gewinnt man eine Lösung von Zymogen, der nur Spuren von Pepsinogen beigemengt sind, in der § 409 beschriebenen Weise. Darstellung des Prochymosins.

Zur Darstellung von möglichst reinem Lab wird nach Hammarsten ein mit 0,3 proc. Salzsäure hergestellter Auszug der Magenschleimhaut vom Kalb mit Magnesiumcarbonat gesättigt und mit überschüssigem Magnesiumcarbonat geschüttelt, das Filtrat mit bas. Bleiacetat gefällt und der Niederschlag mit sehr verdünnter Schwefelsäure zerlegt. Fügt man zu dieser schwachsauren Lösung wässrige Stearinseifenlösung, zertheilt den abfiltrirten Niederschlag in Wasser und schüttelt mit Aether, so löst sich die Stearinsäure im Aether und das Lab bleibt im Wasser gelöst. Darstellung des Labferments.

Labferment ist gegen Alkali sehr empfindlich. Nach Bang[8]) unterscheidet sich das aus Menschen- und Schweinemagen gewonnene von dem aus Kalbsmagen in Bezug auf Widerstandsfähigkeit gegen verdünnte Säure, verdünntes Alkali und Erhitzen. Eigenschaften.

Ueber die bei der Einwirkung von Lab auf Caseïn auftretenden Spaltungsproducte vergl. § 383. Fermentwirkung.

419. Darstellung einer Labflüssigkeit und Prüfung der Labwirkung. Als wirksame Lablösung kann man den Magensaft selbst oder Prüfung der Labwirkung.

---

1) Ebendas. **28**. 60. (1899.) 2) Ebendas. **32**. 341 u. 531. (1901.)
3) Ebendas. **34**. 114. (1902.) 4) Ebendas. **27**. 398. (1899.)
5) Journ. of Physiol. **19**. 466. (1896.) 6) Maly's Jahresber. 1872. S. 118.
7) Arch. f. d. ges. Physiol. **69**. 141. (1898.) 8) Ebendas. **79**. 425. (1900.)

einen mit 0,2 proc. Salzsäure hergestellten Auszug der Magenschleimhaut benutzen. Beide Flüssigkeiten zeigen auch nach der Neutralisation Labwirkung. Auch ein mit Kochsalzlösung hergestellter Kälbermagenauszug ist sehr wirksam, desgleichen eines der käuflichen Labpräparate. Fügt man eine kleine Menge einer solchen neutralen Lösung oder etwas käufliches Labpulver zur Milch, so tritt bei Bruttemperatur alsbald Gerinnung ein.

Vorkommen. 420. **Diastatisches Ferment**, welches Stärkemehl und Glykogen spaltet, findet sich regelmässig in dem Pancreassaft und der Pancreasdrüse, beim Menschen und manchen Thieren im Speichel und in den Speicheldrüsen (Ptyalin). In geringerer Menge wurde es in Blut und Lymphe, Leber und Galle, Magen- und Darmschleimhaut nachgewiesen, es scheint überhaupt in fast allen Organen und Flüssigkeiten vorzukommen. Diastatische Fermente sind auch bei höheren und niederen Pflanzen sehr verbreitet.

Isolirung. Um das Ferment einigermaassen zu isoliren, fügt man nach Cohnheim[1]) zu Speichel oder einem wässrigen Pancreasauszug etwas verdünnte Phosphorsäure und darauf Kalkwasser bis zur neutralen oder schwach alkalischen Reaction. Der entstehende Niederschlag von Calciumphosphat reisst das Ferment theilweise mit und giebt es nach dem Abfiltriren beim Auswaschen mit wenig Wasser an dieses ab. Durch Fällen mit Alkohol wird es abgeschieden und durch abermaliges Lösen in Wasser und Fällen mit Alkohol gereinigt. Zur Isolirung aus Organen kann man diese nach v. Wittich[2]) durch Alkohol erhärten und dann mit Glycerin extrahiren. Aus der Glycerinlösung, in der sich das Ferment beliebig lange unverändert hält, wird es durch Alkohol gefällt.

Das diastatische Ferment wirkt am Besten bei neutraler oder minimal saurer Reaction. Schon 0,03 pCt. Salzsäure, ebenso Alkalien wirken ungünstig ein und etwas höhere Concentrationen zerstören das Ferment.

Fermentwirkung. Die Wirkung der Diastase besteht in einer Spaltung von Amylum und Glykogen in Dextrine (Amidulin, Erythrodextrine, Achroodextrine § 101), Maltose (§ 96) und Isomaltose (§ 97). Auch rohe Stärke wird in dieser Weise gespalten, viel schneller und leichter aber gekochte (Stärkekleister).

Untersuchung der diastatischen Wirkung. 421. Untersuchung der diastatischen Wirkung. Eine leicht beschaffbare diastatisch wirkende Flüssigkeit stellt der menschliche Speichel dar. Bringt man einen dünnen Stärkekleister mit etwa dem 10. Theil Speichel zusammen, so kann man in vielen Fällen sofort nach dem Zusammenmischen der Flüssigkeiten in einer Probe mit Hülfe der Trommer'schen Reaction (S. 94) Dextrine und Maltose nachweisen (Amylum und Amidulin geben diese Reaction nicht). Durch Wiederholung der Prüfung nach einigen Minuten, nach $^1/_4$ Stunde u. s. w. lässt sich eine

---

[1]) Arch. f. pathol. Anat. **28**. 241. (1863.)

[2]) Arch. f. d. ges. Physiol. **3**. 339. (1870.)

durch das Fortschreiten der Spaltung bedingte Zunahme des Reductionsvermögens feststellen. Bei Bruttemperatur verläuft der Process schneller. Ebenso prüft man von Zeit zu Zeit Proben der Mischung auf ihr Verhalten zu Jodjodkalilösung. Während Amylum und Amidulin sich mit Jod blau färben, giebt sich die Bildung von Erythrodextrin durch eine Rothfärbung zu erkennen. Achroodextrin und die weiteren Spaltungsproducte färben sich nicht mehr mit Jod.

422. **Invertin, Maltase, Lactase.** Diese drei Fermente[1]), welche Rohrzucker, Maltose bezw. Milchzucker in die entsprechenden Hexosen spalten, wurden zuerst im Pflanzenreiche nachgewiesen und kommen besonders in den Hefen vor. Vorkommen.

Invertin findet sich in der Dünndarmschleimhaut vom Menschen und Pferd. Es fehlt in der Dünndarmschleimhaut vom Kalb und Rind, in der Magenschleimhaut und dem Pancreas vom Pferd und Rind, im Blutserum aller darauf untersuchten Thiere.

Maltase ist nachgewiesen worden in der Dünndarmschleimhaut und im Blutserum von Menschen und allen darauf untersuchten Thieren, im Darmsaft, im Pancreas, in den Speicheldrüsen und ihren Secreten, in der Schilddrüse und den Hoden vom Pferd.

Lactase wurde gefunden in der Dünndarmschleimhaut von neugeborenen Menschen und jungen Thieren, auch von vielen erwachsenen Säugethieren; sie fehlt im Blutserum, Pancreas, in der Schilddrüse, in den Hoden, soweit die Untersuchungen reichen. Im Hundepancreas fand Weinland[2]) sie, in vermehrter Menge nach Milchfütterung.

Alle drei Fermente gehen in den wässrigen Auszug der Organe über und werden aus diesem durch Alkohol gefällt. Die Maltase wird durch Alkohol leicht zerstört. Isolirung.

Um die Anwesenheit der Fermente in Blut oder Organen festzustellen, wird Blutserum bezw. der wässrige Auszug der abgeschabten Schleimhaut oder des zerkleinerten Organs mit 5 pCt. eines der drei Disaccharide und 1 pCt. Toluol versetzt und in den Brutschrank gestellt. Nach 24 Stunden entfernt man durch Aufkochen unter schwachem Ansäuern mit Essigsäure das Eiweiss und untersucht das Filtrat. Bei Rohrzuckerversuchen beweist der stark positive Ausfall der Trommer'schen Probe die Anwesenheit von Invertin; bei den Versuchen mit Maltose und Milchzucker, welche selbst die Trommer'sche Probe geben, benutzt man zum Nachweis der eingetretenen Spaltung die Phenylhydrazinprobe. Untersuchung der Fermentwirkung.

423. **Steapsin,** das Ferment, welches Neutralfette in Fettsäuren und Glycerin spaltet, findet sich im Pancreas und dessen Secret, nach Vol- Vorkommen.

---

[1]) Siehe besonders E. Fischer u. Niebel, Sitzungsber. d. K. pr. Akad. d. W. 1896. V. S. 73.

[2]) Zeitschr. f. Biolog. **38**. 607. (1899.)

hard[1]) auch in der Magenschleimhaut und im Magensafte. Es scheint auch in andern Organen vorzukommen.

Eigenschaften.

Es ist äusserst leicht zersetzlich und nur in der frischen Pancreasdrüse nachweisbar, durch Fällung mit Alkohol wird es schon verändert.

Untersuchung der Steapsinwirkung.

424. Untersuchung der Steapsinwirkung. Um seine Wirkung festzustellen, bedarf es völlig säurefreien Fettes. Man löst am besten Butter, Mandel- oder Olivenöl in Aether, schüttelt diese Lösung mit verdünnter Sodalösung im Scheidetrichter, giesst die klare Aetherlösung ab, wäscht sie mit Wasser und gewinnt das reine Fett durch Abdestilliren des Aethers. Man mischt durch starkes Umschütteln ungefähr gleiche Volumina des Fettes und der zu prüfenden Flüssigkeit zur feinen Emulsion, fügt Toluol hinzu und lässt unter öfterem Umschütteln 2—6 Stunden bei 40^{0} stehen. Um nun zu untersuchen, in wie weit fette Säuren abgespalten sind, fügt man zur Emulsion verdünnte Sodalösung und Aether, schüttelt anhaltend aber ohne zu heftige Stösse um, lässt einige Zeit ruhig stehen, so dass der Aether sich klärt, giesst diese ätherische Lösung der noch unzersetzt gebliebenen Fette ab, wäscht die wässerige alkalische Flüssigkeit noch mehrmals mit Aetherportionen, fügt dann verdünnte Schwefelsäure bis zur stark sauren Reaction hinzu und schüttelt die saure Flüssigkeit mit neuen Aetherportionen aus. Die klar abgegossenen, nöthigenfalls filtrirten Aetherauszüge geben beim Verdunsten die durch das Ferment aus dem Fett in Freiheit gesetzten Säuren (§ 72).

Vereinfachter Nachweis.

Einfacher ist es Milch in einem Reagensglas mit der auf Steapsin zu prüfenden Flüssigkeit zu versetzen, etwas Lacmustinctur, Sodalösung bis zur schwachen Blaufärbung und etwas Chloroform hinzuzufügen, die Mischung in zwei Reagensgläser zu vertheilen, den einen Theil zum Kochen zu erhitzen und dann beide mehrere Stunden bei 40^{0} stehen zu lassen. Bei Anwesenheit von Steapsin wird in Folge der Fettspaltung in dem nicht gekochten Theil Rothfärbung eintreten, während in dem gekochten Theil die blaue Farbe erhalten bleibt.

---

[1]) Verh. des 19. Congr. f. innere Medicin. S. 302.

III. ABTHEILUNG.

Untersuchung thierischer Flüssigkeiten, Gewebe und Concretionen.

An den Anfang dieses Abschnitts ist die Untersuchung der Aschen gestellt worden, da die für sie in Betracht kommenden Methoden für alle Untersuchungsobjecte die gleichen sind.

Untersuchung der Aschen.

Herstellung der Aschen.

425. Hat eine Probe bei der Prüfung auf Platinblech (§ 53) einen anorganischen Rückstand hinterlassen, so kann man sich durch Prüfung seiner Löslichkeit in Wasser, der Reaction seiner wässerigen Lösung gegen Lacmuspapier, seines Verhaltens gegen Säure (Aufbrausen) meist bei sehr kleinen Aschenrückständen zu manchen Zwecken hinreichend orientiren, zu jeder genaueren Untersuchung ist jedoch die Anfertigung grösserer Aschenquantitäten erforderlich. Die Veraschung kann in allen Fällen auf trocknem Wege (§ 426) geschehen; für manche Zwecke ist die Veraschung auf nassem Wege (§ 428) bei Weitem vorzuziehen. Vorprüfung.

426. **Veraschung auf trocknem Wege.** Man trocknet die Substanzen zunächst möglichst und bringt sie dann in eine Platinschale, welche mindestens das 6fache Volumen der zu veraschenden Substanz fasst. Flüssigkeiten (Harn, Milch) werden gleich in der Platinschale eingedampft. Ist die Substanz spröde, knistert und zerspringt sie beim Erhitzen (Eiweissstücke und dergl.), so bedeckt man zunächst die Schale und erhitzt bedeckt so lange, als man das Knistern hört, dann entfernt man den Deckel. Jedenfalls ist das Erhitzen nur langsam zu steigern, um dem Wasser, gasförmigen und öligen Destillationsproducten hinreichend Zeit zum ruhigen Entweichen zu lassen; zu rapides Entweichen der Gase kann Verlust an Substanz durch Fortreissen zur Folge haben und somit erheblichen Verlust

an Asche*). Tritt zu heftiges Aufschäumen ein, so kann man durch Umrühren und Hinabdrücken mit einem Platinspatel oder starkem Platindraht das Ueberschäumen meist verhindern, ist dies jedoch nicht zu fürchten, so ist es zweckmässiger, die verkohlende Masse nicht zu berühren. Man erhitzt in dieser Weise höchstens bis zur beginnenden Rothgluth und erhält bei dieser Temperatur, bis keine Dämpfe oder Nebel mehr entweichen, die Kohle fest und unbeweglich geworden ist und lässt nun erkalten. Die erkaltete Kohle wird mit ein wenig Wasser übergossen, unter demselben möglichst fein zerrieben, nach Zusatz von mehr Wasser zum Sieden erhitzt, durch ein aschefreies Filter filtrirt und nach dem Ablaufen der Flüssigkeit mit heissem Wasser genügend ausgewaschen. Schale, Filter und Kohle werden jetzt im Luftbade getrocknet, die trocknen Substanzen mit dem Filter in der Schale abermals bei schwacher Rothgluth erhitzt, nach dem Erkalten wieder mit Wasser zerrieben und in der beschriebenen Weise behandelt. Das Filtrat wird mit dem ersten vereinigt. Schale, Filter und Kohle werden wieder getrocknet, allmählich bis zum heftigen Glühen erhitzt und so lange im Glühen erhalten bis die Kohle völlig oder bis auf geringe Spuren verschwunden ist. Da die Kohle stets noch Spuren löslicher Salze zurückhält, ist auch die Asche noch mit Wasser zu extrahiren. Das Filtrat wird mit den andern vereinigt und die ganze Flüssigkeitsmenge durch Eindampfen concentrirt. Die in Wasser unlöslichen Aschebestandtheile werden mit verdünnter Salzsäure erwärmt (Aufbrausen beim Uebergiessen mit Salzsäure zeigt Kohlensäure an, Schwefelwasserstoff giebt sich durch den Geruch zu erkennen) und wenn hierbei Eisenoxyd zurückbleiben sollte, bis zur völligen Lösung mit conc. Salzsäure auf dem Wasserbade digerirt; etwaige Spuren von Kohle werden durch Filtration entfernt. Man erhält auf diese Weise einen wässrigen und einen salzsauren Auszug der Asche, deren qualitative Untersuchung in den §§ 431 u. 432 beschrieben ist.

Wässriger u. salzsaurer Ascheauszug.

Die mehrmalige Extraction der Kohle mit Wasser vor ihrer völligen Zerstörung durch heftiges Glühen hat einerseits den Zweck, die Verflüchtigung der Alkalisalze zu vermeiden, andrerseits die Reduction von schwefelsauren Salzen oder Phosphorsäure zu hindern. Ist eine Kohle reich an Alkalisalzen, so tritt ausserdem der Uebelstand ein, dass dieselben in starker Hitze schmelzen, die Kohle als Schmelze überziehen und den Zutritt des Sauerstoffs zur Kohle verhindern.

Sind die zu veraschenden Quantitäten der Substanz nicht zu bedeutend, so dient zur Heizung der Bunsen'sche Gasbrenner oder die Spiritus-

---

*) Trotz der oben angegebenen Vorsichtsmaassregeln treten beim Verkohlen und Veraschen leicht Verluste an Alkalisalzen, besonders Chlorverbindungen und kohlensauren Salzen ein, wenn beim Verkohlen sich aufblähende organische Substanzen (wie Proteïnstoffe) in reichlicher Menge zugegen sind. Es ist deswegen zur Anfertigung von Aschen aus Blut und anderen eiweissreichen Körpern zweckmässig, die getrockneten und pulverisirten Substanzen mit kochendem Wasser auszulaugen und diese Extracte gesondert von den wieder zu trocknenden, in Wasser nicht löslichen Stoffen der Veraschung in obiger Weise zu unterwerfen.

flamme, grössere Quantitäten verascht man zweckmässiger in der Muffel, in welche man die Substanz in Platin- oder Porzellanschalen einschiebt. Die Oeffnung der Muffel nach der Feuerung ist dabei zu verschliessen, vorn dagegen der Luftzutritt zu gestatten.

427. Da die thierischen Gewebe und Flüssigkeiten organisch gebundenen Phosphor und Schwefel enthalten, welche bei der Veraschung als Phosphorsäure und Schwefelsäure erscheinen, diese Säuren aber wegen Mangel an genügenden Basen sich theilweise verflüchtigen, auch Kohlensäure und Salzsäure aus ihren Verbindungen austreiben können, so ist es für die quantitative Bestimmung mancher Aschebestandtheile in den meisten Fällen nöthig, die zu veraschende Substanz mit Soda zu mengen resp. Flüssigkeiten schon vor dem Eindampfen mit Soda zu versetzen. Bei der Veraschung des Harns ist ein Zusatz von Soda nicht erforderlich. Veraschung unter Sodazusatz.

428. **Veraschung auf nassem Wege nach A. Neumann**[1]).

Princip. Dasselbe beruht darauf, dass verkohlte Massen bedeutend langsamer oxydirt werden, als die ursprüngliche organische Substanz. Die Verkohlung wird vermieden durch langsames, beständiges Zufügen eines äusserst wirksamen Oxydationsmittels.

Erforderliche Lösungen und Apparate. Als Oxydationsmittel dient ein Säuregemisch, das aus gleichen Volumtheilen conc. Schwefelsäure und conc. Salpetersäure (spec. Gew. 1,4) besteht. Die Operation wird vorgenommen in einem schief liegenden Rundkolben von $^1/_2$ bis $^3/_4$ Liter Inhalt aus Jenaer Glas, über dem sich in einem Glas- oder Porzellanringe ein Hahntrichter (zweckmässig mit Tropfcapillare versehen) befindet. Das Ganze ist an einem Stativ befestigt.

Vorbereitung der Substanz. Man kann trockne oder feuchte Substanzen verwenden, selbst Flüssigkeiten können in den meisten Fällen ohne Weiteres, in andern nach dem Eindampfen im Rundkolben (z. B. Blut) in Arbeit genommen werden. Sollte ein Stossen oder Schäumen eintreten, wie es bei fett- oder kohlehydrathaltigen Stoffen (z. B. Milch) zuweilen der Fall ist, so empfiehlt es sich vorher mit 1 proc. reiner Kalilauge (z. B. 15 ccm auf 25 ccm Milch) bis zur Syrupdicke einzudampfen.

429. Um grössere Mengen Harn[2]) (z. B. 500 ccm zur Eisenbestimmung § 436) für die Veraschung ohne Stossen schnell und quantitativ zu concentriren, lässt man beständig kleine Mengen des mit Salpetersäure versetzten Harns zu conc. siedender Salpetersäure fliessen. Concentrirung grosser Harnmengen.

Zu diesem Zweck wird der abgemessene Harn in einem Kolben mit conc. Salpetersäure ($^1/_{10}$ des Harnvolumens) gemischt und durch den Hahntrichter tropfenweise in den Rundkolben gegeben, in dem bei Beginn der Operation 30 ccm conc. Salpetersäure zum Sieden erhitzt werden. Man regulirt nun das Zutropfen des Harns so, dass bei starkem Sieden der Flüssigkeit, das man am Besten durch ein Baboblech erreicht, keine zu grosse Volumvermehrung (höchstens bis zu etwa 100 ccm) eintritt. Kolben und Hahntrichter werden mit wenig verdünnter Salpetersäure nachgespült. Gegen den Schluss der Verdampfung wird die Flamme, wenn nöthig, verkleinert. Hat man die Flüssigkeit

---

[1]) Arch. f. Anat. u. Physiol. Physiol. Abthlg. 1900. S. 159.

[2]) A. Neumann, Ebendas. 1902. S. 362.

bis auf etwa 50 ccm concentrirt, so giebt man durch den Hahntrichter gemessene Mengen Säuregemisch hinzu und verascht weiter nach der im Folgenden beschriebenen Methode.

430. Ausführung der Veraschung. Die Veraschung mit dem Säuregemisch wird in einem gut ziehenden Abzuge ausgeführt. Die Substanz, welche event. in der oben beschriebenen Weise vorbereitet worden ist, wird in dem Rundkolben mit 5—10 ccm Säuregemisch*) übergossen und mit mässiger Flamme erwärmt. (Sind grosse Mengen organischer Substanz zu zerstören, wie z. B. in sehr zuckerreichen Harnen, so lässt man nach dem Hinzufügen des Säuregemisches event. unter Abkühlung erst die Hauptreaction vorübergehen, ehe man erwärmt.) Sobald die Entwicklung der braunen Nitrosodämpfe geringer wird, giebt man aus dem Hahntrichter tropfenweise weiteres Gemisch hinzu und fährt damit fort, bis ein Nachlassen der Reaction eintritt und die Intensität der braunen Dämpfe abgeschwächt erscheint. Um zu entscheiden, ob die Substanzzerstörung beendet ist, unterbricht man das Hinzufliessen des Gemisches für kurze Zeit, erhitzt aber weiter, bis die braunen Dämpfe verschwunden sind und beobachtet, ob sich die Flüssigkeit im Kolben dunkler färbt oder gar noch schwärzt. Ist dieses der Fall, so lässt man wieder Gemisch zufliessen, und wiederholt nach einigen Minuten die obige Probe. Wenn nach dem Abstellen des Gemisches und dem Verjagen der braunen Dämpfe die hellgelbe oder farblose Flüssigkeit sich bei weiterem Erhitzen nicht mehr dunkler färbt und auch keine Gasentwicklung mehr zeigt, dann ist die Veraschung beendet. Ist die Flüssigkeit schwach gelb gefärbt, so wird sie beim Erkalten völlig wasserhell. Nun fügt man etwa dreimal so viel Wasser hinzu, wie Säuregemisch verbraucht wurde, erhitzt und kocht etwa 5 bis 10 Minuten. Dabei entweichen braune Dämpfe, welche von der Zersetzung der entstandenen Nitrosylschwefelsäure herrühren.

Die so erhaltene wasserhelle Lösung der Aschenbestandtheile kann zur qualitativen und quantitativen Untersuchung auf alle Basen (mit Ausnahme von Ammoniak) und (abgesehen von den Componenten des Gemisches) auf nicht flüchtige Säuren benutzt werden.

Qualitative Untersuchung der nach § 426 hergestellten Asche.

431. **Untersuchung des wässrigen Aschenauszugs** (§ 426). Derselbe ist zunächst auf seine Reaction gegen Lacmus zu prüfen. In den bei weitem meisten Fällen wird sie alkalisch gefunden und ist dann durch kohlensaure oder phosphorsaure Alkalien bedingt.

Kohlensäure. Ist kohlensaures Alkali zugegen, so giebt eine durch Abdampfen etwas concentrirte Probe Aufbrausen auf Zusatz von Salzsäure, rührte dagegen die alkalische Reaction von phosphorsaurem Alkali her, so tritt auch beim Erhitzen mit Salzsäure keine Gasentwicklung vor dem Sieden ein, dagegen erhält man die weiter unten angegebenen Reactionen der Phosphorsäure.

*) Diese und die weiter zuzusetzenden Mengen sind annähernd zu messen.

Ausser diesen Verbindungen können die Wasserauszüge der Aschen schwefelsaure und salzsaure Alkalien enthalten, auch schwefelsaurer Kalk kann in seltenen Fällen in thierischen Aschen gefunden werden. Man prüft gesonderte Proben der Flüssigkeit auf folgende Weise:

1. Man versetzt mit Chlorbarium und säuert mit Salzsäure an. Ein feinpulveriger in Salzsäure und Wasser unlöslicher Niederschlag zeigt Schwefelsäure an (§ 49). Schwefelsäure.

2. Man versetzt mit salpetersaurem Silber; ein in Salpetersäure unlöslicher, in Ammoniak dagegen löslicher Niederschlag ist Chlorsilber, weist somit Anwesenheit von Salzsäure nach (§ 46). Salzsäure.

Wenn bei der Verkohlung kohlensaures Alkali zugesetzt (§ 427) oder dieses bereits reichlich in der verkohlten Substanz vorhanden war, kann die Kohle Cyanmetall enthalten. Der Nachweis des Cyanmetalls geschieht in der § 54, 6 angegebenen Weise. Um in diesem Falle auf Salzsäure zu prüfen, säuert man die Probe mit Salpetersäure gut an, erhitzt in der Abdampfschale zum Kochen und prüft dann erst mit salpetersaurem Silber.

3. Man versetzt mit Chlorammoniumlösung, dann mit Ammoniak, Phosphorsäure. schüttelt um und fügt tropfenweise Lösung von schwefelsaurer Magnesia hinzu. Ein entweder sofort oder allmählich beim Stehen unter öfterem Umschütteln entstehender krystallinischer Niederschlag zeigt Phosphorsäure an. Zur Bestätigung kann man eine Probe mit Molybdänsäurelösung (Anh.) versetzen und erwärmen. Ist Phosphorsäure zugegen, so bildet sich allmählich ein gelber, feinkörniger Niederschlag (§ 50).

4. Man prüft mit Ammoniak und oxalsaurem Ammoniak auf Kalk Kalk. (§ 39); derselbe kann höchstens in Spuren in der wässerigen Lösung sein, wenn diese Phosphorsäure oder Kohlensäure enthält und nicht sauer reagirt.

5. Eine Probe wird durch Eindampfen concentrirt, mit Alkohol ver- Kali. setzt und nach Zufügen eines Tropfens Salzsäure und einiger Tropfen Platinchlorid einige Zeit stehen gelassen. Ein gelber krystallinischer Niederschlag weist die Gegenwart von Kali nach. Weitere Proben siehe § 37.

6. Man verdunstet einen Theil in einem Schälchen fast zur Trockne Natron. und bringt etwas von dem Rückstand an einem Platindraht in die Flamme. Strahlend gelbe Färbung der Flamme zeigt die Gegenwart von Natron an*) (§ 38).

Proben dieses Rückstandes können auch zur sprectralanalytischen Prüfung auf Spuren von Lithion (§ 38), Kali und von Kalk (nach Befeuchten des Rückstandes mit Salzsäure) benutzt werden.

7. Um auf event. vorhandene Kieselsäure zu prüfen, säuert man eine Probe Kieselsäure. mit Salzsäure an, verdampft zur Trockne und löst den Rückstand in Salzsäure. Kieselsäure bleibt ungelöst zurück (§ 51).

Hat man wenig Asche und auf alle Bestandtheile zu prüfen, so kann man die durch Salzsäurezusatz auf Kohlensäure untersuchte Probe auch zu den übrigen Reactionen ausser auf Salzsäure benutzen.

---

*) Diese Probe ist natürlich nur bei einer Veraschung ohne Sodazusatz anzustellen.

432. **Untersuchung des salzsauren Aschenauszugs** (§ 426). Die klare salzsaure Lösung*) wird mit kohlensäurefreiem Ammoniak stark alkalisch gemacht und verschlossen einige Zeit stehen gelassen, dann schnell filtrirt und Filter sowie Flüssigkeit dabei möglichst bedeckt gehalten**).

Calcium u. Magnesium als Carbonate.

Das Filtrat***) prüft man mit Ammoniumoxalat auf Kalk (§ 39) und nach völligem Ausfällen des oxalsauren Kalks die abfiltrirte Flüssigkeit mit Natriumphosphat auf Magnesia (§ 40). Diese beiden alkalischen Erden waren in der Asche als Carbonate vorhanden.

Calcium, Magnesium u. Eisen als Phosphate.

Der durch Ammoniak erzeugte Niederschlag kann Calcium, Magnesium und Eisen als Phosphate und ausserdem Eisenoxydhydrat enthalten.

Zum Nachweis der Phosphorsäure löst man einen kleinen Theil in Salpetersäure und fügt Ammoniummolybdat hinzu (§ 50, 5).

Der durch Ammoniak hervorgerufene Niederschlag hat entweder weisse oder gelbliche bis röthliche Farbe. Wenn er weiss oder gelblichweiss erscheint, untersucht man ihn nach 1; ist er röthlich gefärbt (wie z. B. in der Blutasche), so enthält er mehr Eisenoxyd als die Phosphorsäure zu sättigen vermag und wird nach 2 behandelt.

1. Man erwärmt den Niederschlag mit Essigsäure. Ungelöst bleibende, gelblichweisse Flocken bestehen aus Ferriphosphat, welches man nach dem Lösen in Salzsäure mit Rhodan- oder Ferrocyankalium auf Eisen (§ 41) prüft. Das Filtrat vom Ferriphosphat wird mit Ammoniumoxalat auf Kalk geprüft, vorhandener Kalk unter Erwärmen völlig ausgefällt und das Filtrat mit Ammoniak versetzt. Ist Magnesia vorhanden, so bildet sich sogleich oder nach einiger Zeit ein krystallinischer Niederschlag.

2. Ist der durch Ammoniak erhaltene Niederschlag röthlich und sonach reich an Eisen, so löst man ihn in wenig Salzsäure, stumpft die Säure durch Natrium- oder Ammoniumcarbonat so weit ab, dass die Lösung röthlich erscheint aber noch klar ist und sauer reagirt, fügt dann eine genügende aber nicht zu grosse Quantität einer Lösung von essigsaurem Natron hinzu und erhitzt zum Sieden, entfernt dann die Flamme und lässt den Niederschlag sich absetzen. Die Flüssigkeit über dem braunen Niederschlag soll ganz farblos sein. Der Niederschlag wird dann abfiltrirt und mit siedendem Wasser unter Zusatz von etwas Natrium- oder Ammoniumacetat schnell ausgewaschen. Der Niederschlag enthält alles Eisen und die ganze Phosphorsäure (Prüfung wie oben).

---

*) Ueber den Nachweis der Kieselsäure, welcher nur bei grosser Aschenquantität und auch dann nur, wenn in Platingefässen verascht war, ausgeführt werden kann, siehe § 51. Die von der Kieselsäure abfiltrirte salzsaure Lösung kann dann für die weitere Untersuchung benutzt werden.

**) Diese Vorsichtsmaassregeln beziehen sich auf den Nachweis von nicht an Phosphorsäure gebundenen Kalk, welcher durch Ammoncarbonat gefällt werden würde.

***) Ist das Filtrat blau gefärbt, so enthält es Kupfer, man säuert dann die Flüssigkeit mit Salzsäure schwach an, fällt das Kupfer durch einen Strom Schwefelwasserstoff, filtrirt, löst das Schwefelkupfer in wenig heisser Salpetersäure und prüft nach § 43. Die vom Schwefelkupfer abfiltrirte Flüssigkeit wird mit Ammoniak alkalisch gemacht und mit ihrer Untersuchung wie oben angegeben fortgefahren.

Die abfiltrirte Flüssigkeit wird mit Ammoniak*) und Ammoniumoxalat versetzt, ein entstandener Niederschlag von Calciumoxalat abfiltrirt und das Filtrat durch Zusatz von Natriumphosphat auf Magnesia geprüft.

Quantitative Bestimmungen einzelner Aschebestandtheile.

Bei allen diesen Bestimmungen ist das Ausgangsmaterial genau abzuwägen und jede einzelne Operation nach den Regeln der quantitativen Analyse (§§ 11 ff) auszuführen.

433. **Kalium und Natrium.** Der nach § 426 hergestellte wässrige Auszug der Asche (Veraschung ohne Sodazusatz!) wird mit Chlorbarium versetzt, so lange ein Niederschlag entsteht, dann Barytwasser bis zur stark alkalischen Reaction hinzugefügt, filtrirt und der Niederschlag ausgewaschen. Das Filtrat wird mit Ammoniak und kohlensaurem Ammoniak gefällt, wieder filtrirt und gewaschen, das gesammelte Filtrat zur Trockne verdunstet, zur vollständigen Entfernung der Ammonsalze bis zum schwachen Glühen erhitzt, der Rückstand in wenig Wasser gelöst, etwa ungelöst bleibende Flocken abfiltrirt, mit Wasser gut ausgewaschen, die Flüssigkeit abermals zur Trockne verdunstet, schwach geglüht und gewogen. Man löst nun den gewogenen Rückstand, welcher die Summe des Chlorkaliums und Chlornatriums ausmacht, in wenig Wasser und etwas Alkohol, fügt Platinchlorid hinzu, bis kein Niederschlag mehr entsteht und die Farbe der Flüssigkeit gesättigt gelb erscheint, lässt 12 bis 24 Stunden bedeckt stehen, sammelt dann den Niederschlag auf einem kleinen gewogenen Filter, wäscht mit verdünntem Alkohol gut aus, trocknet bei 100—110°, lässt über Schwefelsäure erkalten und wägt. Aus dem Gewichte des Kaliumplatinchlorids wird das Gewicht des Chlorkaliums berechnet nach der Tabelle (Anh.) und durch Subtraction desselben von dem vorher gefundenen Gewichte der Summe der Chloralkalimetalle das Gewicht des Chlornatriums gefunden. Bestimmung von Kalium und Natrium.

Statt des wässrigen Auszuges lässt sich auch die nach A. Neumann hergestellte Aschenlösung (§ 430) benutzen, nur empfiehlt es sich dieselbe zunächst durch Abrauchen von dem grössten Theile der Schwefelsäure zu befreien.

434. **Calcium und Magnesium.** a) Calcium. Die nach A. Neumann hergestellte Lösung (§ 430) wird mit Ammoniak übersättigt, mit Essigsäure angesäuert, event. von ungelöstem Ferriphosphat abfiltrirt, mit einer Lösung von Ammonoxalat ausgefällt und erhitzt. Nach etwa einstündigem Stehen in der Wärme wird der Niederschlag abfiltrirt (ist das Bestimmung von Calcium.

*) Etwa vorhandenes Mangan (§ 42), welches sich durch das Auftreten eines gelblichen bis fleischrothen Niederschlags auf Zusatz von Schwefelammonium zum ammoniakalisch gemachten Filtrat zu erkennen giebt, ist zunächst durch Schwefelammonium auszufällen. Man lässt nun bedeckt an einem warmen Orte stehen, filtrirt bedeckt, wäscht sogleich mit schwefelammoniumhaltigem Wasser aus und prüft dann das Filtrat auf Calcium und Magnesium.

Filtrat trübe, so muss es so lange zurückgegossen werden, bis die Flüssigkeit völlig klar abläuft), mit heissem Wasser ausgewaschen und nun nach 1. oder 2. weiter behandelt.

Gewichtsanalytische Bestimmung.

1. Gewichtsanalytische Bestimmung als Calciumoxyd. Nach völligem Auswaschen wird der Niederschlag in einem gewogenen Platintiegel vorsichtig feucht verbrannt, über dem Gebläse oder im Hempel'schen Ofen geglüht und als Calciumoxyd gewogen. Die dem Calciumoxyd entsprechende Menge Calcium berechnet man nach der Tabelle im Anhang.

Titrimetrische Bestimmung.

2. Titrimetrische Bestimmung mit Permanganat (§ 19). Hierzu ist es nöthig, so lange auszuwaschen, bis eine Probe des Filtrats nach Ansäuern mit Schwefelsäure und Erwärmen einen Tropfen Permanganat nicht mehr entfärbt. (Durch diese Prüfung kann man die völlige Entfernung von Oxalsäure und salpetriger Säure, die von der Veraschung herrührt, erkennen.) Nun wird der noch feuchte Niederschlag völlig vom Filter gespült, mit Schwefelsäure versetzt und erwärmt, bis gerade Blasen springen. Jetzt titrirt man mit Permanganat bis zur schwachen Rothfärbung. Die zur Oxydation von 10 ccm $^{n}/_{10}$ Oxalsäure nöthigen Cubikcentimeter Kaliumpermanganatlösung entsprechen 0,02 g Ca. Ist sehr wenig Kalk vorhanden, so benutzt man $^{n}/_{100}$ Permanganatlösung, welche gegen $^{n}/_{100}$ Oxalsäure eingestellt ist. Es empfiehlt sich bei der Titration etwa die gleiche Flüssigkeitsmenge wie bei der Titerstellung zu benutzen.

Bestimmung von Magnesium.

b) Magnesium. Das Filtrat der Kalkfällung (+ Waschwasser) wird hinreichend concentrirt, mit Ammoniak*) stark übersättigt und nach Zusatz von etwas Ammoncitrat mit Natriumphosphatlösung gefällt. Nach zwölfstündigem Stehen filtrirt man ab, wäscht mit 2,5 proc. Ammoniakflüssigkeit aus, trocknet, verascht zuerst das Filter, dann den Niederschlag im Porzellantiegel, indem man zunächst sehr allmählich erhitzt, schliesslich stark glüht. Zuletzt fügt man noch einige Tropfen verd. Salpetersäure hinzu, trocknet, glüht abermals und wägt als Magnesiumpyrophosphat. Ist die Substanz nicht völlig weiss, so muss die Behandlung mit Salpetersäure nochmals wiederholt werden. Die Umrechnung auf Magnesium geschieht nach der Tabelle im Anh.

Bestimmung des Eisens.

435. **Eisen.** Für die Bestimmung des Eisens ist vor Kurzem von A. Neumann eine jodometrische Methode angegeben worden, welche sich an seine § 430 beschriebene Veraschungsmethode anschliesst. Sie ist wegen der Einfachheit und Schnelligkeit der Ausführung und weil sie nur geringe Mengen Ausgangsmaterial (z. B. von Blut 5 ccm) erfordert den älteren Methoden vorzuziehen, bei welchen die umständliche Veraschung auf trocknem Wege vorangehen muss.

---

*) Enthielt die Flüssigkeit bereits Phosphorsäure und waren die Salze derselben nur durch Essigsäure in Lösung gehalten, so genügt häufig schon die Uebersättigung mit Ammoniak zur Ausfällung der Magnesia.

436. Jodometrische Bestimmung des Eisens nach A. Neumann[1]. Jodometrische Bestimmung.

Princip. Wenn man eine schwefelsaure Lösung von Zinksulfat und viel phosphorsaurem Natron schwach ammoniakalisch macht und dann erhitzt, so scheidet sich alles Zink in Form von Zinkammoniumphosphat krystallinisch ab; enthält die Lösung nicht zu grosse Mengen von Eisenoxyd, so wird auch dieses quantitativ mitgefällt. Durch das so abgetrennte Eisenoxyd werden nach dem Lösen in Salzsäure aus Jodkalium äquivalente Mengen Jod frei gemacht, welche nach Zusatz von Stärkelösung noch mit einer etwa $^{n}/_{250}$ Thiosulfatlösung gemessen werden können (§ 20).

Erforderliche Lösungen. 1. Eisenchloridlösung, enthaltend 2 mg Fe in 10 ccm. Dieselbe wird hergestellt, indem man genau 20 ccm der Fresenius'schen Eisenchloridlösung[2], welche 10 g Fe im Liter enthält und von der Firma Kahlbaum bezogen werden kann, in einen Litermaasskolben fliessen lässt, mit etwa 2 ccm conc. Salzsäure versetzt und dann genau zum Liter auffüllt. Diese Lösung ist lange unverändert haltbar; man verwahrt sie zweckmässig in einer braunen Flasche.

2. Etwa $^{n}/_{250}$ Thiosulfatlösung. Man löst 1 g Natriumthiosulfat und 1 g Ammoniumcarbonat (beides annähernd genau abgewogen) in etwa 1 Liter Wasser.

3. Stärkelösung. Man löst in $^{1}/_{2}$ Liter kochenden Wassers 1 g lösliche Stärke (Schering) und kocht noch weitere 10 Minuten.

4. Zinkreagens. Etwa 25 g Zinksulfat und etwa 100 g Natriumphosphat werden jedes für sich in Wasser gelöst und die Lösungen in einem Litermaasskolben vereinigt. Der entstandene Niederschlag von Zinkphosphat wird durch Zusatz von verd. Schwefelsäure gerade gelöst und die Lösung sodann zum Liter aufgefüllt.

Alle zur Eisenbestimmung benutzten Reagentien müssen frei von Eisen sein.

Titerstellung. Da die sehr verdünnte Thiosulfatlösung nicht unverändert haltbar ist, so muss bei jeder Bestimmung der Titer derselben festgestellt werden. Dieses geschieht leicht und schnell in folgender Weise: 10 ccm Eisenchloridlösung werden in einem Kolben mit etwas Wasser, einigen Cubikcentimetern Stärkelösung und etwa 1 g (nach dem Augenmaass) Jodkalium versetzt, auf etwa 50 bis 60° erwärmt und mittelst der Thiosulfatlösung titrirt, bis die blaue Farbe über rothviolett gerade verschwindet. Die verbrauchten Cubikcentimeter entsprechen dann gerade 2 mg Fe. Nach einigen Minuten färbt sich die Lösung wieder violett. Der Titer der Thiosulfatlösung ändert sich in den ersten beiden Wochen nach der Herstellung sehr wenig, dann aber schneller. Es ist zweckmässig, eine Thiosulfatlösung nur so lange zu benutzen, als sich der Titer nicht um mehr als den vierten Theil seines ursprünglichen Werthes verändert hat; entsprachen also Anfangs 8 ccm 2 mg Fe, so kann man die Lösung benutzen, bis 10 ccm 2 mg Fe entsprechen. Dieser Zeitpunkt wird im Allgemeinen nach 3 bis 4 Wochen erreicht sein.

Ausführung der Eisenbestimmung: Die mit Wasser verdünnte und etwa 10 Minuten gekochte Aschenlösung wird nach dem Abkühlen und

[1]) Arch. f. Anat. u. Physiol. Physiol. Abthlg. 1902. S. 362.

[2]) Fresenius, Quantitative Analyse. B. 1. S. 288.

eventueller Zugabe von genau abgemessenen 10 ccm Eisenchloridlösung (siehe nächsten Absatz) mit 20 ccm Zinkreagens und dann mit Ammoniak (unter Abkühlung) so lange versetzt, bis der weisse Niederschlag von Zinkphosphat gerade bestehen bleibt. (Bis zur annähernden Neutralisation nimmt man concentrirtes, dann verdünntes Ammoniak.) Nun giebt man etwas Ammoniak im Ueberschuss zu, bis der weisse Niederschlag gerade eben verschwunden ist, und erhitzt auf dem Baboblech zum Sieden. Wenn krystallinische Trübung eingetreten ist, erhitzt man noch etwa 10 Minuten; hierbei ist Vorsicht nöthig, da die Flüssigkeit zuweilen hochgeschleudert wird. Der krystallinisch abgeschiedene Niederschlag setzt sich schnell ab und kann leicht durch Decantiren von der Flüssigkeit getrennt werden. Man giesst die heisse Flüssigkeit durch ein kleines, aschefreies, anliegendes Filter (von 3 bis 4 cm Radius) und prüft eine kleine Probe des Filtrates mit Salzsäure und Rhodankalium auf Eisen; es darf keine oder nur eine äusserst schwache Röthung eintreten. (War die Färbung deutlich roth, so muss man das schon Filtrirte zurückgiessen, nochmals auf dem Baboblech erhitzen und wieder prüfen.) Der Niederschlag wird nun etwa drei Mal durch Decantiren mit heissem Wasser ausgewaschen; das letzte Waschwasser darf dann, wenn man etwa 5 ccm davon mit einigen Krystallen Jodkalium, Stärkelösung und einem Tropfen Salzsäure versetzt, keine oder nur äusserst schwache Violettfärbung zeigen. Nunmehr wird der Trichter mit dem Filter auf den Kolben, in dem sich noch die Reste des Niederschlags befinden, gesetzt, das Filter zweimal mit verdünnter heisser Salzsäure gefüllt und dann mit heissem Wasser vier bis fünf Mal ausgewaschen. Eine Probe des Waschwassers darf ebenso wenig wie das Filter mit Rhodankalium eine Rothfärbung geben. Jetzt befindet sich das ganze Eisen in salzsaurer Lösung im Kolben. Da aber für die Titration die Flüssigkeit nur schwach sauer sein darf, so wird zunächst mit verdünntem Ammoniak neutralisirt, bis gerade wieder der weisse Zinkniederschlag erscheint, und dann durch portionsweises Zugeben von je zehn Tropfen Salzsäure wieder völlig klar gelöst. Diese Lösung wird sodann genau in derselben Weise titrirt, wie es für die 10 ccm Eisenlösung bei der Titerstellung angegeben ist. Die Berechnung ist äusserst einfach. Ergab die Titerstellung, dass 10 ccm Eisenlösung (= 2 mg Fe) 9,2 ccm Thiosulfatlösung erforderten, und wurden bei der Haupttitration 12,5 ccm Thiosulfat verbraucht, so berechnet sich aus der Proportion 9,2 : 2 = 12,5 : x
x = 2,72 mg Fe.

20 ccm Zinkreagens sind ausreichend für 5 bis 6 mg Fe. Man wählt die Substanzmenge für eine Bestimmung zweckmässig so, dass darin 2 bis 3 mg Fe vorhanden sind. Hat man selbst in grossen Mengen sehr wenig Eisen, wie z. B. im Harn, so giebt man zweckmässig genau abgemessene 10 ccm Eisenchloridlösung vor dem Hinzufügen des Zinkreagens hinein und zieht dann von den Cubikcentimetern Thiosulfatlösung, welche bei der Haupttitration verbraucht wurden, die Anzahl Cubikcentimeter Thiosulfatlösung

ab, welche bei der Titerstellung von 10 ccm Eisenchloridlösung beansprucht wurden.

437. Oxydimetrische Bestimmung des Eisens mit Permanganat. Oxydimetrische Bestimmung.

Princip. Das in der Asche als Oxyd vorhandene Eisen wird durch schweflige Säure reducirt und das so gebildete Eisenoxydul durch Permanganat oxydirt.

Erforderliche Lösungen. 1. Eine gesättigte wässrige Lösung von schwefliger Säure (in einer braunen Flasche mit Glasstopfen aufzubewahren).

2. Eine auf $^n/_{100}$ Oxalsäure eingestellte Lösung von Kaliumpermanganat (§ 19).

Ausführung. Man verdampft den salzsauren Auszug, der nach § 426 hergestellten Asche in einer Platinschale mit überschüssiger reiner Schwefelsäure über kleiner Flamme ohne Sieden, erhitzt bis zum Beginn der Nebelbildung durch verdampfende Schwefelsäure, löst den Rückstand in Wasser, bringt die Lösung unter mehrmaligem Nachspülen mit Wasser in einen Kolben, fügt ungefähr 20 ccm der gesättigten wässrigen Lösung von schwefliger Säure hinzu, erhitzt zum Sieden und hält solange im schwachen Sieden, bis die schweflige Säure völlig verschwunden ist. Nachdem das Volumen der Flüssigkeit durch Zufügen von Wasser oder Eindampfen auf das Volumen gebracht ist, welches die zur Titerstellung benutzte Oxalsäurelösung gehabt hatte, fügt man von der Kaliumpermanganatlösung hinzu, bis die Rothfärbung der Flüssigkeit beim Stehen in 10—20 Minuten nicht wieder verschwindet. Die für die Oxydation von 10 ccm $^n/_{100}$ Oxalsäure erforderliche ccm-Anzahl der Permanganatlösung entspricht 0,0056 g Fe.

Für diese Bestimmung sind von Blut mindestens 50 ccm, von Harn, Galle, Milch und andern Flüssigkeiten und Organen die 4 bis 10 fache Menge erforderlich.

438. Gewichtsanalytische Bestimmung des Eisens als Ferriphosphat. Gewichtsanalytische Bestimmung. Der nach § 426 hergestellte salzsaure Auszug wird mit etwas Natriumphosphat*) versetzt, mit Ammoniak alkalisch und mit Essigsäure sauer gemacht. Man filtrirt das unlösliche Ferriphosphat ab, wäscht aus, glüht und wägt. Die dem Ferriphosphat entsprechende Menge Eisen berechnet man nach der Tabelle im Anh.

439. **Mangan.** Der Gehalt thierischer Aschen an Mangan ist meist zu unbedeutend, als dass er ohne Verwendung sehr grosser Aschemengen irgend genau bestimmt werden könnte. Hat man das Mangan entsprechend dem S. 397 Anm. angegebenen Verfahren als Schwefelmangan gefällt, den Niederschlag auf kleinem Filter gesammelt, nachdem man ihn zuerst durch Decantiren von der Flüssigkeit getrennt hat, und mit schwefelammoniumhaltigem Wasser gewaschen, so bringt man ihn am Besten in einen Rose'schen Tiegel, trocknet und glüht bis zur völligen Veraschung des Filters. Nach dem Erkalten bestreut man die geglühte Masse mit etwas reinem Schwefelpulver, bedeckt den Tiegel und leitet durch das Einleitungsrohr getrocknetes Wasserstoffgas, erhitzt, wenn die Entwickelung einige Zeit im Gange ist, den Tiegel zum lebhaftesten Glühen, so dass aller überschüssiger

*) Dieser Zusatz hat den Zweck, alles Eisen an Phosphorsäure zu binden. Er kann fortfallen, wenn mehr Phosphorsäure als dem Eisen entspricht, vorhanden ist, z. B. in den Aschen von Harn, Serum, Transsudaten und Secreten.

Schwefel entfernt wird, lässt im Wasserstoffstrome erkalten und wägt. Das Mangan wird bei diesem Verfahren in Mangansulfür verwandelt[1]). Ueber die Umrechnung auf Mangan siehe die Tabelle im Anh.

440. **Salzsäure.** Die Bestimmung der Salzsäure kann entweder in dem wässrigen Auszug (§ 426) einer unter Sodazusatz (§ 427) hergestellten Asche oder nach einem von A. Neumann angegebenen Verfahren vorgenommen werden.

Gewichtsanalytische Bestimmung.

441. Bestimmung der Salzsäure im wässrigen Aschenauszug durch Wägung als Chlorsilber.

Man fällt die mit Salpetersäure angesäuerte Lösung durch Silbernitrat, solange ein Niederschlag entsteht, erwärmt auf dem Wasserbade, sammelt den Niederschlag auf einem Filterchen, wäscht aus, bis das ablaufende Waschwasser durch Salzsäure nicht mehr getrübt wird, trocknet dann Filter und Niederschlag im Luftbade, schüttet das Chlorsilber (wenn soviel vorhanden ist) auf ein Stückchen Glanzpapier aus, faltet das Filter zusammen und verbrennt es zunächst durch Glühen im gewogenen Porzellantiegel. Nach dem Erkalten des Tiegels wird der Rückstand des Filters, der metallisches Silber enthält, mit einigen Tropfen Salpetersäure übergossen, erwärmt und durch ein Paar Tropfen Salzsäure völlig in Chlorsilber übergeführt. Man dampft vorsichtig zur Trockne ab, schüttet vom Glanzpapier das noch nicht geglühte Chlorsilber in den Tiegel, erhitzt gerade bis zum beginnenden Schmelzen des Chlorsilbers, lässt dann erkalten und wägt. Ueber die Berechnung der Salzsäure aus dem Chlorsilber siehe die Tabelle (Anh.)

Viel bequemer ist es, die ganze Operation (Filtriren, Auswaschen, Erhitzen des Chlorsilbers bis zum beginnenden Schmelzen und Wägen) in einem gewogenen Goochtiegel (§ 11) vorzunehmen.

Titrimetrische Bestimmung nach Mohr.

442. Bestimmung der Salzsäure im wässrigen Aschenauszug durch Titration nach Mohr.

Princip. Fügt man zu einer Lösung, welche Chlormetall und Kaliumchromat enthält, Silbernitrat, so entsteht zunächst weisses Chlorsilber und erst, wenn alles Chlor ausgefällt ist, bildet sich rothes chromsaures Silber (Endreaction).

Lösungen: 1. Silberlösung, enthaltend in 1 Liter 29,055 g reines geschmolzenes Silbernitrat (in dunkler Flasche aufzubewahren).

1 ccm dieser Lösung = 0,01 g NaCl oder = 0,00606 g Cl.

2. Conc. wässrige Lösung von neutralem Kaliumchromat.

Ausführung. Man fügt zu der neutralen Lösung (reagirt sie alkalisch, so säuert man zunächst mit Salpetersäure an und neutralisirt durch eine Messerspitze reines Calciumcarbonat) einige Tropfen Kaliumchromatlösung und dann aus der Bürette unter Umrühren in kleinen Portionen, zuletzt tropfenweise, solange Silberlösung, bis der Niederschlag eine nicht

[1]) Rose, Pogg. Ann. **110**. 122. (1860.)

wieder verschwindende Rothfärbung zeigt (Endreaction). Die Anzahl der bis zum Eintritt der Endreaction verbrauchten ccm Silberlösung ergeben mit 10 multiplicirt die Menge NaCl oder mit 6,06 multiplicirt die Menge Cl in mg, welche in der Lösung enthalten waren.

Um die Silberlösung auf ihre Richtigkeit zu prüfen (sie kann sich bei längerer Aufbewahrung zersetzen), dient eine Lösung, welche in 1 Liter 10 g reines, schwach geglühtes, von Chlorkalium freies Chlornatrium enthält. 20 ccm dieser Lösung müssen bis zum Eintritt der Rothfärbung genau 20 ccm der Silberlösung verbrauchen.

443. Bestimmung der Salzsäure bei Stoffwechselanalysen nach A. Neumann[1]). Bestimmung der Salzsäure nach A. Neumann.

Princip. Bei der in § 430 beschriebenen Veraschung entweicht alles Chlor (aus Chloriden) in Form von Salzsäure. Lässt man nun diese Dämpfe über eine Silbernitratlösung gehen, so wird die Salzsäure quantitativ als Chlorsilber gefällt. Nach Entfernung der mitübergegangenen salpetrigen Säure durch Kochen und durch Kaliumpermanganat, sowie nach Zersetzung des letzteren durch Eisenoxydulsalz wird die überschüssige Silbermenge nach der Volhard'schen Methode (§ 469, 2) mittelst Rhodankalium zurücktitrirt. Man verwendet wässeriges Säuregemisch, da bei Anwendung des concentrirten leicht etwas Chlor als solches entweicht.

Angewendete Lösungen. 1. Wässeriges Säuregemisch, bestehend aus gleichen Volumtheilen Wasser, conc. Salpetersäure (spec. Gew. 1,4) und conc. Schwefelsäure.

2. 5 proc. Kaliumpermanganatlösung.

3. 5 proc. Ferroammonsulfatlösung (mit Schwefelsäure bis zur Klärung versetzt).

4. Eisenoxydammoniakalaun. Kalt gesättigte Lösung.

5. Silbernitratlösung von bekanntem Gehalt. Man benutzt in den meisten Fällen zweckmässig eine solche, von der 1 Cubikcentimeter 0,002 g NaCl entspricht; dieselbe ist 5 mal so schwach, wie die im § 442 beschriebene.

6. Rhodankaliumlösung, gegen die Silberlösung genau (1 : 1) eingestellt (§ 469, 2).

Apparatur. In den Tubus einer Retorte von ca. $1/2$ Liter Inhalt ist ein Tropftrichter luftdicht eingeschliffen. Das Rohr der Retorte verjüngt sich so, dass es leicht durch den Hals eines Kolbens von $1/2$ Liter Volumen hindurchgeht. Dieser als Vorlage dienende Kolben liegt in einer Schale, welche zur Kühlung mit Wasser gefüllt wird.

Ausführung der Bestimmung. Feste Substanzen werden feucht oder trocken in die Retorte gebracht; Flüssigkeiten müssen vorher bei schwacher Soda-Alkalescenz concentrirt werden. Nachdem man in den Vorlage-Kolben überschüssige, genau abgemessene Mengen Silberlösung gegeben hat, fügt man soviel Wasser hinzu, dass $1/4$ des Kolbens mit Flüssigkeit gefüllt ist. Sodann legt man ihn in die mit Wasser gefüllte Schale und schiebt das Retortenrohr so hinein, dass sein Ende sich etwa 1 cm über der Flüssigkeit befindet. Nunmehr setzt man in den Tubus den Tropftrichter luftdicht ein und lässt aus demselben das verdünnte Säuregemisch langsam unter Erwärmen eintropfen. Das übergehende Destillat erzeugt alsbald in der Silberlösung weisse Trübung oder Niederschlag von Chlor-

[1]) Nach persönlicher Mittheilung von Herrn A. Neumann.

silber. Nach Verlauf von $1/2$ Stunde prüft man, ob noch Salzsäure übergeht. Dazu lässt man aus derselben Bürette, aus welcher man die Silberlösung für die Vorlage abgemessen hat, 1—2 ccm in ein weites Reagensglas fliessen und lässt das zu prüfende Destillat in dieses tropfen. Wenn kein Chlorsilber mehr ausfällt, ist die Destillation beendet. Die zu den Proben benutzten Silbermengen werden quantitativ mit der Hauptmenge in der Vorlage vereinigt; ausserdem notirt man die Gesammtsilbermenge nach dem Stande in der Bürette.

Da die mitübergegangene salpetrige Säure die Titration mit Rhodanlösungen stört, so muss sie vorher entfernt werden. Zu dem Zwecke kocht man 5—10 Minuten (am Besten, um Stossen zu vermeiden, auf einem Baboblech), bis alle braunen Dämpfe entwichen sind. Der Rest der salpetrigen Säure wird durch Zufügen von Kaliumpermanganat bis zur beginnenden Röthung wegoxydirt und dann der Ueberschuss an Permanganat durch einige Tropfen Ferroammonsulfat entfärbt.

Nach völligem Erkalten wird unter Hinzufügen von 5 ccm Eisenoxydammoniakalaun mit der Rhodankaliumlösung zurücktitrirt. Man giebt letztere schnell unter starkem Umschütteln hinzu, bis gerade eine röthlich-bräunliche Färbung eintritt, welche bei ruhigem Stehen 5 bis 10 Minuten erhalten bleibt, dann aber allmählich durch Zersetzung des Chlorsilbers verschwindet.

Berechnung. Durch Subtraction der Rhodankaliummenge von der notirten Gesammtsilbermenge erhält man die ccm Silberlösung, welche der in der untersuchten Substanz enthaltenen Chlormenge entsprechen.

Nach Hoehnel-Glaser, modificirt von v. Asbóth.

444. **Gesammtschwefel*).** Nach Hoehnel-Glaser in der Modification von v. Asbóth**). Die getrocknete Substanz (1 g) wird in einem bedeckten Nickeltiegel mit calc. Soda (7,5 g) und Natriumperoxyd (10 g) gemischt und mittelst einer kleinen Spiritusflamme erwärmt, so dass der Tiegel von derselben nicht berührt wird. Wenn die Mischung zusammensintert und zu schmelzen beginnt, verstärkt man die Flamme und erhitzt so lange, bis die Schmelze dünnflüssig geworden ist. Nach dem Erkalten wird die Schmelze in Wasser gelöst, die Lösung nach Ansäuern mit bromhaltiger Salzsäure bis zum Verschwinden des Broms gekocht, in ein Becherglas filtrirt und heiss mit einer heissen Lösung von Chlorbarium versetzt, so lange ein Niederschlag entsteht. Man erwärmt auf dem Wasserbade, bis der Niederschlag sich abgesetzt hat, giesst die klare Flüssigkeit durch das Filter, bringt dann auch den Niederschlag auf, wäscht mit

---

*) D. h. der in anorganischer und organischer Bindung vorhandene. Enthält die Substanz keine Sulfate, so ist das Resultat auf organisch gebundenen Schwefel zu beziehen.

) Chemikerztg. **19, 2. 2040. (1895.) vergl. auch Düring, Zeitschr. f. physiol. Chem. **22**. 281. (1896.) Die Mengenverhältnisse sind etwas geändert.

Wasser aus, trocknet, glüht und wägt. Die Umrechnung des gefundenen Bariumsulfats auf Schwefelsäure geschicht nach der Tabelle (Anh.).

445. Nach Liebig. Reines schwefelfreies Aetzalkali (ungefähr die 12 fache Menge der Substanz) wird mit dem 8. Theil Salpeter nach Zusatz einiger Tropfen Wasser in einem Silbertiegel mittelst Spiritusflamme zum Schmelzen erhitzt. Nach dem Erkalten bringt man die Substanz in den Tiegel, erhitzt vorsichtig bis zum Schmelzen, rührt mit einem Silberspatel um und erhitzt allmählich weiter, bis die Masse möglichst weiss geworden ist. Wenn nöthig, wird gegen Ende der Verbrennung noch etwas Salpeter hinzugefügt. Man lässt nun erkalten, bringt die Masse mit Wasser, zuletzt mit etwas Salzsäure in eine Schale, verdampft zur Entfernung der Salpetersäure mehrmals mit starker Salzsäure auf dem Wasserbade zur Trockne, löst den Rückstand in Wasser, filtrirt in ein Becherglas, fügt Salzsäure hinzu, erhitzt, fällt mit Chlorbarium und verfährt weiter wie § 444 angegeben. Nach Liebig.

Beide Methoden liefern genaue Werthe. Dasselbe gilt von der Methode von Carius, welcher die Substanz durch Erhitzen mit rauchender Salpetersäure im zugeschmolzenen Rohr auf 200—250° zerstört und zur Entfernung der Salpetersäure und weiter, wie oben angegeben, verfährt; doch ist das § 444 beschriebene Verfahren seiner grösseren Einfachheit wegen vorzuziehen. Methode von Carius.

446. **Bleischwärzender Schwefel nach K. A. H. Mörner**[1]). Die Substanz wird mit 50 g Aetznatron, 10 g Bleiacetat und 200 ccm Wasser nach Zusatz von einem ganz kleinen Stückchen Zink (um ein ruhiges Kochen zu erzielen) auf dem Drahtnetz in einem Kolben aus Jenaglas 8—8½ Stunden gekocht. Das ausgeschiedene Schwefelblei wird auf einem Asbestfilter gesammelt, mit reiner sehr verd. Natronlauge möglichst schnell und so lange ausgewaschen, bis das Filtrat schwefelsäurefrei und die Mutterlauge entfernt ist, und nun nach Zusatz von Salpetersäure mit Bromwasser oxydirt. Das Zinkstückchen wird für sich in Salpetersäure gelöst und mit der übrigen Lösung vereinigt. Den nach Eindampfen auf dem Wasserbade hinterbleibenden Rückstand nimmt man mit reinem Natriumcarbonat und etwas Wasser auf, führt ihn in einen Silber- oder Nickeltiegel über, trocknet ein und erhitzt über der Weingeistflamme. Jetzt wird mit Wasser ausgelaugt, das Ungelöste noch einmal mit Sodalösung erwärmt und mit Wasser ausgewaschen. Das Filtrat versetzt man mit Bromwasser, übersättigt mit reiner Salzsäure und trocknet auf dem Wasserbade ein. Den Rückstand nimmt man mit nicht zu wenig Salzsäure und Wasser auf, filtrirt und bestimmt nach genügender Verdünnung mit Wasser die Schwefelsäure als Bariumsulfat in der § 444 angegebenen Weise. Es ist darauf zu achten, dass das Bariumsulfat weiss ist; bei Gegenwart von Blei ist es gelblich. Das Blei muss in diesem Fall durch Umschmelzen mit Soda entfernt werden.

447. **Phosphorsäure** *). Durch Wägung als Magnesiumpyrophosphat. Die getrocknete Substanz wird mit dem 10 bis 20 fachen Gewicht einer Mischung von 1 Theil Soda und 2 Th. Salpeter innig ge- Gewichtsanalytische Bestimmung.

---

*) D. h. die in anorganischer und organischer Bindung vorhandene. Enthält die Substanz keine Phosphate, so ist das Resultat auf organisch gebundene Phosphorsäure zu beziehen.

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **34**. 207. (1902.)

mischt und in einer Platinschale vorsichtig verbrannt. Die Schmelze wird in Wasser gelöst, die Lösung mit Salpetersäure stark übersättigt, zur Entfernung der salpetrigen Säure erhitzt, etwas eingeengt und nach Entfernung von vorhandenem Chlor als Chlorsilber und nach Zusatz von Ammonnitrat mit Molybdaenlösung (Anh.) versetzt. Die Menge dieser Lösung ist so zu bemessen, dass auf 0,1 g Phosphorsäure mindestens 80 ccm der Molybdaenlösung (4 g Molybdaensäure) kommen und die Menge des Ammonnitrats so, dass unter Berücksichtigung des Gehalts der Molybdänlösung an Ammonnitrat (8 pCt.) die Flüssigkeit im Ganzen 15 pCt. Ammonnitrat enthält. Man rührt um, ohne die Wandung zu berühren, lässt 12 Stunden bei etwa 40° stehen, giesst die überstehende Flüssigkeit durch ein kleines Filter ab und wäscht den Niederschlag durch wiederholtes Decantiren und Abgiessen der Flüssigkeit durch das Filter mit einer Lösung, die 15 pCt. Ammonnitrat und 1 pCt. Salpetersäure enthält, aus, bis das Filtrat auf Zusatz von Ammoniak völlig klar bleibt. Der Niederschlag wird in einer Lösung, die 2 pCt. Citronensäure und 2,5 pCt. Ammoniak enthält, gelöst, die Lösung etwas erwärmt und mit einem geringen Ueberschuss von Magnesiamischung (Anh.) unter starkem Umrühren, ohne die Wandung zu treffen, gefällt. Die weitere Behandlung geschieht nach § 434, b. Die Umrechnung des gefundenen Magnesiumpyrophosphats auf P_2O_5 geschieht nach der Tabelle (Anh.).

Alkalimetrische Bestimmung.

448. Alkalimetrische Bestimmung nach A. Neumann[1]).

Princip. Der nach bestimmter Vorschrift erzeugte und völlig ausgewaschene gelbe Niederschlag von phosphormolybdaensaurem Ammoniak hat die Zusammensetzung $2(NH_4)_3PO_4 \cdot 24\,MoO_3 \cdot 4\,HNO_3$ und wird durch Natronlauge nach der Gleichung $2\,(NH_4)_3PO_4 \cdot 24\,MoO_3 \cdot 4\,HNO_3 + 56\,NaOH = 2\,Na_2HPO_4 + 24\,Na_2MoO_4 + 4\,NaNO_3 + 32\,H_2O + 6\,NH_3$ zerlegt. Entfernt man das Ammoniak nach Zusatz von überschüssiger Natronlauge durch Kochen, so kann man mittelst Phenolphtaleïn als Indicator, gegen das Dinatriumphosphat neutral reagirt, durch Säure zurücktitriren und so genau ermitteln, wie viel Natronlauge zur völligen Neutralisation des gelben Niederschlags erforderlich ist. Verwendet man zweckmässig zur Titration $^n/_2$ Lösungen, so entspricht jedem Cubikcentimeter verbrauchter $^n/_2$ Natronlauge 1,268 mg P_2O_5, wie aus folgender Betrachtung sich ergiebt: Nach obiger Gleichung entsprechen 56 Mol. Natronlauge 1 Mol. P_2O_5; mithin 56 Liter n Natronlauge 142g P_2O_5 oder 1 ccm $^n/_2$ Natronlauge 1,268 mg P_2O_5.

Erforderliche Lösungen: 1. 50proc. Ammonnitratlösung. 2. 10 proc. in der Kälte hergestellte und filtrirte Ammonmolybdatlösung. 3. $^n/_2$ Natronlauge und $^n/_2$ Schwefelsäure (§ 17). 4. 1 proc. alkoholische Phenolphtaleïnlösung.

Ausführung. Die nach § 430 auf nassem Wege hergestellte und ver-

---

[1]) Arch. f. Anat. u. Physiol. Physiol. Abthlg. 1900. S. 159.

dünnte Aschenlösung*) wird in einen Kolben von ca. 1 Liter Inhalt mit der aufgeklebten Marke 150 ccm quantitativ übergespült und bis zur Marke mit Wasser versetzt. Nach dem Hineingeben von 50 ccm Ammonnitrat**) wird auf etwa 70—80° erhitzt d. h. bis gerade Blasen aufsteigen; darauf werden 40 ccm Ammonmolybdat hinzugefügt. Man schüttelt den entstandenen Niederschlag von phosphormolybdaensaurem Ammoniak etwa $\frac{1}{2}$ Minute gründlich durch, wodurch sich derselbe körniger abscheidet und lässt 15 Min. stehen. Das Filtriren und Auswaschen geschieht durch Decantiren. (Man verwendet dünnes, am Besten aschefreies Filtrirpapier, welches beim späteren Auflösen des Niederschlags in verdünnter Natronlauge leicht zerreisst und sich durch die ganze Flüssigkeit vertheilt. Die Filter, welche einen Radius von 5—6 ccm haben, werden entweder als Faltenfilter oder auch sehr zweckmässig als glatte Filter im Rippentrichter benutzt.) Vor dem Filtriren wird das Filter mit eiskaltem Wasser gefüllt, um die Filterporen zusammenzuziehen und so zu verhindern, dass die noch warme Lösung in Folge des äusserst feinen Niederschlags nicht ganz klar filtrirt. Um bequem zu decantiren, legt man den Kolben auf einen Stativring etwas höher als das Filter und lässt durch Neigen des Kolbenhalses die klare Flüssigkeit ohne Unterbrechung durch das Filter fliessen, indem man den Zufluss nach dem Abfluss regulirt. Auf diese Weise kann man erreichen, dass nur sehr wenig Niederschlag auf das Filter kommt, welches stets nur bis zu $\frac{2}{3}$ seines Volumens gefüllt wird. Das Auswaschen geschieht in der Weise, dass man zu dem im Kolben zurückgebliebenen Niederschlage unter vollständiger Bespülung der Kolbenwandungen etwa bis zur Marke eiskaltes Wasser setzt, heftig durchschüttelt und in dem Stativringe absitzen lässt. Während dessen wird auch das Filter 1—2 Mal mit eiskaltem Wasser gefüllt. Man decantirt dann wieder, wie oben beschrieben, und wiederholt das Auswaschen etwa 3—4 Mal, bis das Waschwasser gerade nicht mehr gegen Lacmuspapier sauer reagirt. Nunmehr giebt man das ausgewaschene Filter in den Kolben hinein zu der Hauptmenge der Fällung, fügt Wasser bis zur Marke hinzu, zertheilt durch heftiges Schütteln das Filter durch die ganze Flüssigkeit und löst den gelben Niederschlag, indem man aus einer Bürette gemessene Mengen einer $^{n}/_{2}$ Natronlauge hinzufügt, unter beständigem Schütteln und ohne zu erwärmen, eben gerade zu

*) Für diese Bestimmung genügt es, die erhaltene Aschenlösung mit der ein- bis zweifachen Wassermenge (bezogen auf verbrauchtes Säuregemisch) zu verdünnen.

**) Wurden bei der Veraschung mehr als 40 ccm Säuregemisch verwendet, so ist die Verdünnung mit Wasser und die Menge des Ammonnitrats in demselben Verhältniss zu vermehren. 40 ccm Ammonmolybdat reichen aus für 60 mg P_2O_5. Es ist zweckmässig, die Substanzmenge so zu wählen, dass sie nicht mehr als 50 mg P_2O_5 enthält, weil man sonst unnöthig viel von den Normallösungen gebraucht und die Bestimmungen selbst bei 15 mg P_2O_5 noch sehr zuverlässige Resultate geben.

einer farblosen Flüssigkeit auf. Sodann wird noch ein Ueberschuss von 5 bis 6 ccm $^n/_2$ Natronlauge hinzugefügt und die Flüssigkeit solange gekocht, bis mit den Wasserdämpfen kein Ammoniak mehr entweicht (Prüfung mit feuchtem Lacmuspapier). Nach völligem Abkühlen unter der Wasserleitung wird durch Hinzufügen von 6—8 Tropfen Phenolphtaleïnlösung die Flüssigkeit stark geröthet*) und der Ueberschuss an Alkali durch $^n/_2$ Säure zurückgemessen. Die Anzahl der zugefügten Cubikcentimeter $^n/_2$ Natronlauge abzüglich der verbrauchten Cubikcentimeter $^n/_2$ Säure ergeben mit 1,268 multiplicirt die Menge P_2O_5 in Milligrammen.

449. **Kieselsäure.** Die Substanz ist in einer Platinschale zu veraschen (§ 426) und die Kohle durch Glühen möglichst vollständig zu entfernen. Man übergiesst dann die Asche mit Salzsäure und digerirt bis zur Lösung, verdampft zur Trockne und erhitzt auf dem Sandbade über 100°, bis keine sauren Dämpfe mehr entweichen, digerirt den Rückstand mit Salzsäure auf dem Wasserbade einige Zeit, verdünnt dann mit Wasser und bringt die allein ungelöst bleibende Kieselsäure auf ein kleines Filter, wäscht gut aus, trocknet, glüht und wägt nach dem Erkalten über Schwefelsäure.

Man prüft die gewogene Kieselsäure auf ihre Reinheit durch Kochen mit mässig conc. Lösung von kohlensaurem Natron (ist sie rein, so löst sie sich hierbei klar auf) oder besser durch Abdampfen in conc. Lösung mit überschüssiger wässriger Flusssäure und Erhitzen zum Glühen, wobei sich die Kieselsäure verflüchtigt (§ 51), während vorhandene andere Stoffe zurückbleiben und gewogen werden können.

450. **Kohlensäure.** In den Aschen der Organe oder Flüssigkeiten höherer Thiere findet sich nur wenig kohlensaures Salz. Beim Veraschen (§ 426) kann Kohlensäure aus ihren Verbindungen durch Phosphorsäure ausgetrieben und beim Glühen kohlensaurer Kalk in Calciumoxyd umgewandelt werden. Aschen, in denen Kohlensäure bestimmt werden soll, sind deshalb mit besonderer Vorsicht darzustellen.

Beschreibung des Apparates.

Zur Bestimmung der Kohlensäure kann der in Fig. 9 abgebildete Apparat dienen. Die Substanz, deren Kohlensäuregehalt bestimmt werden soll, wird in den Kolben *A* gebracht und etwas ausgekochtes destillirtes Wasser hinzugefügt, so dass nach Aufsetzen des Korkes die Einleitungsröhre mit der Oeffnung *a* unter dem Niveau desselben steht. Die Glashähne *c* und *d* sind vorläufig beide geschlossen. Das zunächst an den Kolben angefügte Chlorcalciumrohr *F* ist grösstentheils mit Stücken von getrocknetem Chlorcalcium, von *f* bis *m* jedoch mit Bimsteinstücken, die mit Kupfervitriollösung getränkt und dann zur Entwässerung des Kupfervitriols scharf erhitzt sind, gefüllt. An dies Chlorcalciumrohr ist der Liebig'sche Kalikugelapparat *G* und hieran das U-röhrchen *H*, gefüllt mit Aetzkalistückchen, angefügt. Die Apparate *G* und *H*, der erstere mit Kalilauge von 1,27 spec. Gew. in passender Weise gefüllt, sind vor dem Versuche genau zu wägen. Die Flaschen *K* und *M* enthalten Chlorcalciumstücke und die U-röhren *J* und *L* kleinkörnigen Natronkalk. Diese Apparate *ML* und *KJ* verhindern, dass Kohlensäure und Feuchtigkeit von aussen in den Apparat gelangen können, wenn Luft in der einen oder anderen Richtung hineindringt.

Ausführung der Bestimmung.

Ist nun die Substanz mit Wasser in *A* eingebracht und sind die Apparate durch Kautschukröhrchen mit einander verbunden, die Enden der Röhren *n* und *o* aber offen, so giesst man eine genügende Quantität reine starke Salzsäure in die Glashahn-

---

*) Wird die Flüssigkeit nicht stark roth, so müssen noch einige ccm $^n/_2$ Natronlauge zugefügt werden. Auch nach abermaligem Erhitzen (Prüfung auf Ammoniak) muss die Lösung stark roth bleiben.

bürette *B*, deren Hahn geschlossen ist und deren verlängertes unteres Ende durch den Kautschukstopfen in den Hals des Kolbens *A* hinreichend tief hineinragt. Man lässt dann tropfenweise durch vorsichtiges Oeffnen des Hahns *c* Salzsäure in den Kolben *A* fallen, bewegt den Kolben etwas, wartet einige Zeit, wenn sich noch Gasblasen aus der Flüssigkeit entwickeln, und lässt dann von Neuem einige Tropfen Salzsäure in den Kolben fliessen, bis keine weitere Gasentwickelung mehr zu bemerken ist. Jetzt erhitzt man den Kolben *A* sehr langsam, allmählich aber bis zum Sieden der Flüssigkeit, öffnet dann schnell den Hahn *d*, während man die Flamme entfernt, verbindet den Kautschukschlauch *n* mit einem Aspirator und saugt langsam Luft durch die ganze Reihe der Apparate hindurch, bis das aus dem Aspirator abgelaufene Wasser ungefähr das 10—15 fache Volumen des Kolbens *A* ausmacht. Dann werden die Kaliapparate *G* und *H* abgenommen und

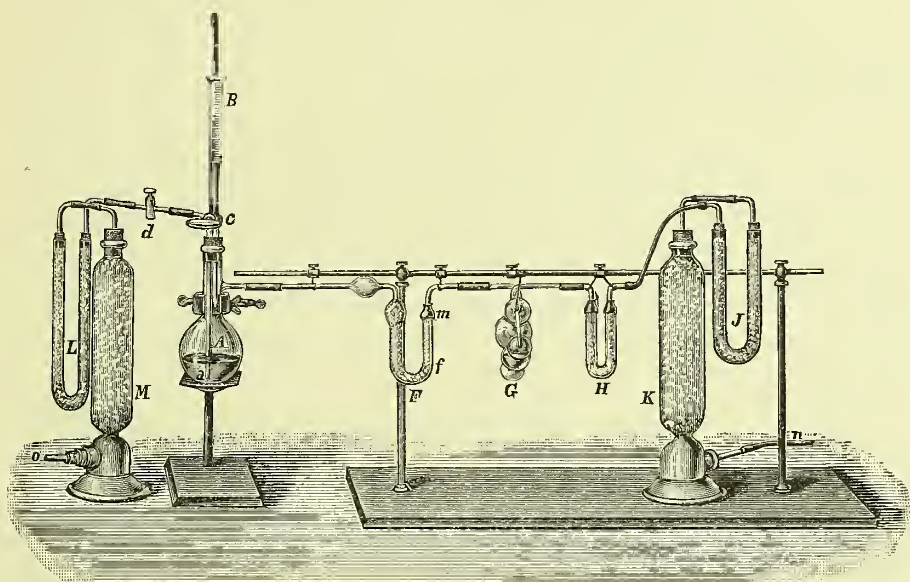


Fig. 9.

gewogen; ihre Gewichtszunahme ist das Gewicht der in der Substanz enthaltenen Kohlensäure.

Es ist besonders darauf zu achten, dass das Erhitzen der Flüssigkeit im Kolben *A* so langsam geschieht, dass der entweichende Luftstrom langsam durch die Kalilauge geht, dass man nur soweit das Sieden unterhält, bis sich etwas Wasser in der Kugel des Chlorcalciumrohrs *F* niederschlägt und dass man dann schnell den Hahn *d* öffnet, während man die Flamme entfernt.

Der Apparat kann zu allen erforderlichen Kohlensäurebestimmungen dienen. Die Resultate sind genau und die Operation ist einfach und leicht ausführbar. Die Füllung der Apparate reicht meist für mehrere Bestimmungen aus.

Angaben über quantitative Bestimmung und Analyse der Gesammtasche.

451. Eine genaue Bestimmung der Gesammtasche ist in den meisten Fällen nicht möglich. Das zu beschreibende Verfahren wird um so richtigere Werthe liefern, je weniger organisch gebundener Phosphor und Schwefel in der zu veraschenden Sub-

stanz vorhanden ist*). Bei der Veraschung des Harns, welcher sehr arm an derartigen Bestandtheilen ist, werden zuverlässige Resultate erhalten. Man verfährt in folgender Weise: Das abgewogene oder abgemessene Ausgangsmaterial wird in einer gewogenen Platinschale getrocknet bezw. eingedampft und in der § 426 angegebenen Weise behandelt nur mit der Abweichung, dass die wässrigen Kohleauszüge zu dem stark geglühten Veraschungsrückstand in die Platinschale gegossen und in dieser verdampft werden. Man erhitzt jetzt nochmals kaum bis zum schwachen Glühen, lässt erkalten und wägt. Der erhaltene Werth abzüglich des Gewichts der Platinschale ergiebt die Menge der Asche.

Bestimmung der Gesammtasche.

Will man den wasserunlöslichen und wasserlöslichen Theil der Asche getrennt bestimmen, so stellt man zunächst, wie es im § 426 angegeben ist, zwei Wasserauszüge der Kohle und einen Wasserauszug der Asche her und ermittelt nun einerseits, wie oben angegeben, das Gewicht der bei der Behandlung mit Wasser zurückgebliebenen und nochmals schwach geglühten Asche (wasserunlöslicher Theil), andererseits das Gewicht des beim Verdampfen der vereinigten Wasserauszüge hinterbleibenden und ganz schwach geglühten Rückstandes (wasserlöslicher Theil).

Quantitative Analyse der Aschenbestandtheile.

452. Um eine vollständige quantitative Analyse der Aschenbestandtheile auszuführen, die gleichzeitig darüber Aufschluss giebt, wie sich die einzelnen Basen auf die einzelnen Säuren vertheilen, wie viel Phosphorsäure an Alkalien, wie viel an alkalische Erden und wie viel an Eisen gebunden ist, wie viel Calcium- und Magnesiumcarbonat vorhanden ist u. s. w., benutzt man den wässrigen und salzsauren Auszug (§ 426) einer nach § 427 unter Sodazusatz hergestellten Asche und führt die Bestimmung und Trennung der einzelnen Bestandtheile im Anschluss an die §§ 431 und 432 gegebenen Vorschriften und unter Benutzung der in den §§ 433 ff beschriebenen Methoden quantitativ durch. (Für die Bestimmung der Alkalien verascht man einen Theil des Untersuchungsobjectes ohne Sodazusatz.)

Indessen ist zu bemerken, dass eine solche Aschenanalyse keinen Aufschluss über die in den Geweben vorgebildeten Salze giebt. Während der Veraschung entsteht nämlich aus organisch gebundenem Schwefel Schwefelsäure, aus organisch gebundenem Eisen Eisenoxyd; Phosphorsäure, welche in organischer Bindung vorhanden war, wird aus dieser Verbindung frei u. s. w. In Folge dessen treten unübersehbare Verschiebungen in den Gruppirungen der einzelnen Basen und Säuren auf. Nur die Vertheilung von Calcium und Magnesium auf Phosphorsäure und Kohlensäure dürfte in der Asche dieselbe sein wie in der ursprünglichen Substanz. Bestimmungen dieser beiden alkalischen Erden in dem Filtrat vom Ammoniakniederschlage sowie in diesem Niederschlage selbst (§ 432) geben Aufschluss über die in der ursprünglichen Substanz einerseits an Kohlensäure und andrerseits an Phosphorsäure gebundenen Mengen von Calcium und Magnesium. Indessen gilt diese Angabe nur dann, wenn die zu veraschende Substanz kein an Salzsäure gebundenes Calcium oder Magnesium enthält. Ist das der Fall, so wird bei der Veraschung mit Soda mehr oder weniger dieser Chlorverbindungen in Carbonate umgewandelt werden.

---

*) Bei Anwesenheit von organisch gebundenem Schwefel und Phosphor kann man vielleicht durch Zusatz von gewogener Menge Kupferoxyd zu der zu veraschenden Substanz Verluste verhindern und nach Abzug des zugesetzten Kupferoxyds die Gesammtasche ermitteln. Bei der Veraschung unter Sodazusatz (§ 427) findet zwar ebenfalls kein Verlust an Schwefelsäure und Phosphorsäure statt, wohl aber ein solcher an Kohlensäure, so dass die hierbei erhaltenen Resultate ebenfalls ungenau sind.

Bestimmung des Gesammtstickstoffs nach Kjeldahl*).

453. Princip. Diese Methode, mit Hülfe deren der Stickstoff in allen Organen, Flüssigkeiten, Bestandtheilen und Ausscheidungen des Körpers bestimmt werden kann, beruht auf der quantitativen Ueberführung des gesammten Stickstoffs in Ammoniak unter gleichzeitiger völliger Zerstörung der organischen Substanz durch Erhitzen mit concentrirter Schwefelsäure und Bestimmung der Menge des gebildeten Ammoniaks durch Titration. Die zerstörende Wirkung der Schwefelsäure wird begünstigt durch die Anwesenheit von Kaliumsulfat (Bildung von Kaliumpyrosulfat) (Gunning, Arnold und Wedemeyer) und von Metalloxyden z. B. Kupfersulfat (Wilfarth).

Erforderliche Apparate und Lösungen: 1. Rundkolben aus hartem Glas von ca. 15 cm Halslänge und 200 ccm Inhalt (Kjeldahlkolben).

2. Eine Destillationsvorrichtung, wie sie in umstehender Zeichnung (Fig. 10) abgebildet ist: Kolben von ca. 500 ccm Inhalt mit Kugelaufsatz zur Verhinderung des Ueberspritzens, Liebig'scher Kühler, Vorlage.

3. Conc. stickstofffreie Schwefelsäure.
4. 33 proc. Natronlauge.
5. $^{n}/_{10}$ Schwefelsäure und $^{n}/_{10}$ Lauge (§ 17).
6. Krystallisirtes Kupfersulfat.
7. Krystallisirtes stickstofffreies Kaliumsulfat.
8. Talcum.
9. Lacmoïd-Malachitgrün (§ 15). Bei organischen Säuren nicht verwendbar.

Ausführung der Bestimmung im Harn.

a) Ausführung im Harn. Man bringt genau abgemessene 5 ccm Harn in einen Kjeldahlkolben, fügt etwa 10 ccm conc. Schwefelsäure und ungefähr 1 g Kupfersulfat hinzu, erhitzt den in schräger Lage auf dem Drahtnetz unter dem Abzuge liegenden Kolben und giebt, wenn alles Wasser verdampft ist und weisse Schwefelsäuredämpfe sich entwickeln, ca. 5 g Kaliumsulfat hinzu. Man erhält die Flüssigkeit in lebhaftem Sieden, bis sie jede Spur eines gelblichen Farbentones verloren und farblos oder blau-grün geworden ist. Das ist nach etwa $^{1}/_{4}$ Stunde der Fall. Die etwas erkaltete Flüssigkeit wird mit etwa 50 ccm Wasser verdünnt und quantitativ unter wiederholtem Nachspülen mit kleinen Mengen Wasser in den Halbliterkolben a (Fig. 10) übergeführt. Man fügt jetzt Talcum hinzu, wäscht das am obern Theil des Halses hängen gebliebene Pulver mit einem Tuche heraus und versetzt nun ohne Umschütteln mit soviel starker Natronlauge als zur Alkalisirung nöthig ist. Man vermeide, dass die Natronlauge mit dem obern Theil des Kolbenhalses in Berührung kommt, da sonst der Stopfen nicht fest sitzt. Die erforderliche Menge der Natronlauge muss bekannt sein, bei Benutzung einer 33 proc. Lauge genügen 40—50 ccm. Sobald die Lauge zugefügt ist, verbindet man den Kolben schnell mit dem Kugelaufsatz, welcher dazu dient, ein Ueberspritzen alkalischer Flüssigkeit während des Destillirens zu verhindern und seinerseits an das vom Liebig'schen Kühler umgebene Destillationsrohr e angeschlossen ist, und zündet sofort den

*) Zeitschr. f. analyt. Chem. **22**. 366. (1883.) Eine Verbesserung erfuhr diese Methode hauptsächlich durch Wilfarth, Zeitschr. f. analyt. Chem. **24**. 455. (1885), Gunning, Ebendas. **28**. 188. (1889) u. Arnold und Wedemeyer, Ebendas. **31**. 525. (1892.)

Brenner unter dem Kolben an. Das an das vordere Ende des Rohrs c mittelst Gummischlauch angefügte Glasrohr d führt in den Kolben e. In diesen Kolben („die Vorlage“) hat man schon **vorher** 50 ccm $^{n}/_{10}$ Schwefelsäure eingebracht. Das Rohr d soll in diese Flüssigkeit eben eintauchen. Die Destillation geht (wegen der Anwesenheit des Talcum) ohne Stossen vor sich und wird unterbrochen, sobald alles Ammoniak übergegangen ist. Um sich davon zu überzeugen, löst man nach etwa 20 Min. langem Kochen die Gummiverbindung zwischen c und d und fängt einen

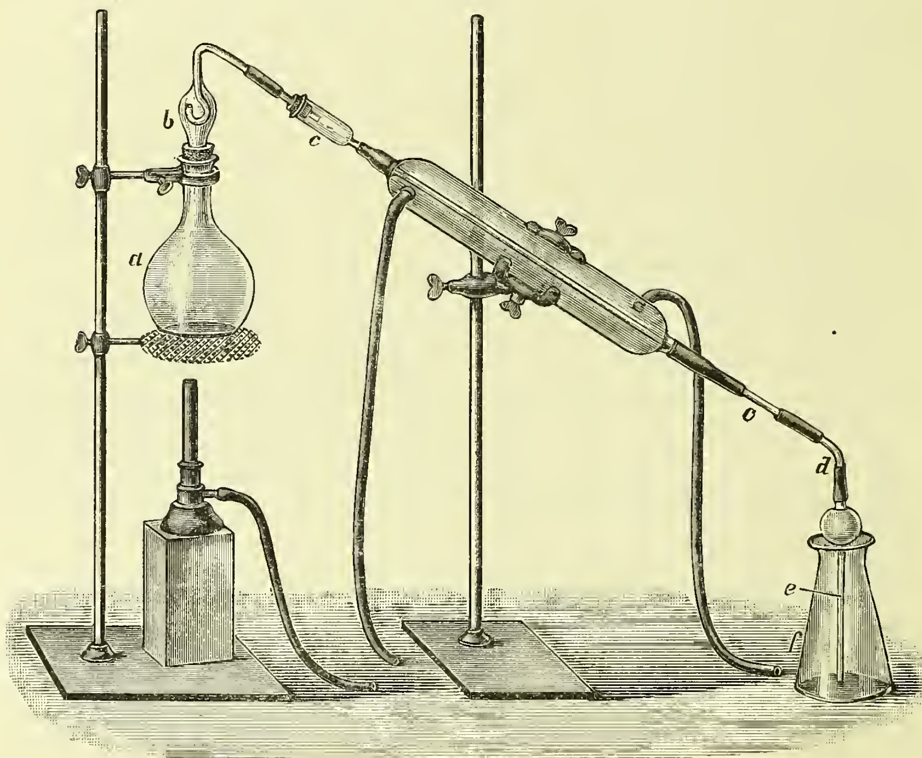


Fig. 10.

Tropfen des Destillats auf einem rothen Lacmuspapier auf. Wird dasselbe noch blau gefärbt, so stellt man die Verbindung sofort wieder her und prüft nach einiger Zeit aufs Neue. Zeigt sich keine Andeutung einer Blaufärbung mehr, so spritzt man die innen und aussen am Rohre d hängende Flüssigkeit mit der Spritzflasche in den Kolben e, fügt einige Tropfen Lacmoïd-Malachitgrün hinzu*) und titrirt mit $^{n}/_{10}$ Natronlauge zurück (§ 16). Zieht man die Anzahl der hierzu verbrauchten Cubikcentimeter von 50 ab und multiplicirt diese Zahl mit 1,404, so erhält man die Menge Stickstoff in Milligrammen, welche in 5 ccm Harn enthalten sind.

*) Sollte sich hierbei alkalische Reaction ergeben, so kann man mit $^{n}/_{10}$ Säure den Ueberschuss an Ammoniak ermitteln. Ein Verlust an Ammoniak hat nicht stattgefunden.

b) Ausführung bei eiweisshaltigen Substanzen (Milch, Fleisch, Organen, Brod), bei Fäces u.s.w. Man nimmt von Milch 5 ccm, von frischem Fleisch, frischen Organen, trocknem Brod, getrockneten Fäces je 1 g. Ueber das Abwägen siehe § 12. Zur Zerstörung dieser Substanzen werden etwa 15 ccm conc. Schwefelsäure, 1 g Kupfersulfat und (nach Auftreten weisser Schwefelsäuredämpfe) 7—8 g Kaliumsulfat verwandt. Bei kohlehydrathaltigen Stoffen, wie Milch, Brod, ist es zur Verhinderung eines Ueberschäumens nöthig, zunächst vorsichtig zu erwärmen und erst allmählich die Flamme zu vergrössern. Der Zerstörungsprocess erfordert in diesen Fällen meist längere Zeit als beim Harn. Zur Alkalisirung sind 60—70 ccm der 33 proc. Natronlauge erforderlich. Die Menge der vorzulegenden $^n/_{10}$ Schwefelsäure richtet sich nach dem Stickstoffgehalt der zu untersuchenden Substanzen; bei Anwendung der oben genannten Mengen werden 50 ccm ausreichen. Im Uebrigen geschieht die Ausführung wie oben beschrieben. Ausführung der Bestimmung in eiweisshaltigen Substanzen, Fäces u. s. w.

Veraschung und Destillation lassen sich bei Benutzung eines Jenaer Halbliterrundkolbens in einem und demselben Gefässe ausführen. Der grössere Veraschungskolben verhindert auch leichter das Ueberschäumen

1. Untersuchung des Harns.

Allgemeines.

454. **Bestandtheile.** Der Harn des Menschen und der Wirbelthiere mit Ausnahme der Vögel und beschuppten Amphibien stellt im Wesentlichen eine wässrige Lösung von Harnstoff und anorganischen Salzen, hauptsächlich Chlornatrium, dar. Bei einer grossen Anzahl von Pflanzenfressern, besonders pflanzenfressenden Säugethieren, finden sich neben Harnstoff noch reichliche Quantitäten von Hippursäure, die aber bei Menschen und Fleischfressern nur in geringer Menge vorhanden ist und auch ganz fehlen kann. Der Harn der Vögel und beschuppten Amphibien besteht aus einem Brei von Harnsäure und harnsauren Salzen, in dem meist nur Spuren von Harnstoff vorhanden sind. Ausserdem enthält der Harn eine grosse Anzahl anderer Stoffe in geringer, zum Theil sehr geringer Menge.

Im normalen Harn des Menschen und der Säugethiere sind bis jetzt nachgewiesen worden: Normale Harnbestandtheile.

Von anorganischen Stoffen: Phosphate von Natron, Kalk, Magnesia, salzsaure und schwefelsaure Alkalien, Ammoniaksalze, Spuren von Nitraten und (seltener und nur bei Pflanzennahrung) Calciumcarbonat.

Von organischen Stoffen: niedere und höhere Fettsäuren, Oxalsäure, Aceton, Glycerinphosphorsäure, Glykose (Spuren), Milchzucker (bei Wöchnerinnen), Carbaminsäure, Harnstoff, Oxalursäure, Allantoïn (reichlicher im Fötalzustande und einige Tage nach der Geburt), Kreatinin, Harnsäure, Purinbasen, Rhodanwasserstoff, Taurocarbaminsäure (?), Cystin (?), Chondroïtinschwefelsäure, Inosit, Hippursäure, Phenacetursäure (?), p-Oxyphenylessigsäure, Hydro-

p-cumarsäure, Skatolcarbonsäure (?), gepaarte Schwefel- und gepaarte Glycuronsäuren, Harnfarbstoffe (§§ 264 ff), organische Eisenverbindungen, Oxyproteïnsäure, Harnmukoïd, Fermente z. B. Pepsin.

Pathologische Harnbestandtheile. Unter pathologischen Verhältnissen sind im Harn ausserdem gefunden worden: Milchsäure, Aceton, Acetylessigsäure, β-Oxybuttersäure, Fette, Glykose (grosse Mengen), linksdrehende Zucker, i-Arabinose, Lecithin, Leucin, Cystin, Putrescin, Cadaverin, Ptomaïne, Oxymandelsäure, Tyrosin, Homogentisinsäure, Uroleucinsäure, Cholesterin, Cholsäure, Glyko- und Taurocholsäure, Hämatin, Hämatoporphyrin, Gallenfarbstoffe, Melanine, Eiweissstoffe, Blutfarbstoffe, Methämoglobin.

455. **Geruch.** Der eigenthümliche aromatische Geruch des Harns von Menschen und Thieren hat noch nicht auf bestimmte chemische Stoffe zurückgeführt werden können.

456. **Menge und specifisches Gewicht.** Die 24stündige Harnmenge eines erwachsenen Mannes beträgt im Durchschnitt 1500 ccm und das spec. Gewicht, welches am Einfachsten mit dem Aräometer (§ 22) geprüft wird, im Durchschnitt 1015—1020. Die Harnmenge ist vermehrt bei reichlicher Flüssigkeitsaufnahme, verringert bei geringer Wasserzufuhr, beim Schwitzen und bei Diarrhöen. Das spec. Gew., welches mit der Harnquantität fällt und steigt, kann zwischen 1000 und 1050 schwanken. Ein in reichlicher Menge ausgeschiedener Harn zeigt ein niedriges, ein in geringer Menge ausgeschiedener ein hohes spec. Gewicht. Eine Ausnahme findet beim Diabetes statt, bei dem viel Harn mit hohem spec. Gew. secernirt wird.

457. **Consistenz.** Die Consistenz des Harns von Menschen und den meisten Säugethieren ist die einer gut tropfbaren Flüssigkeit, er besitzt weder Zähigkeit noch Klebrigkeit. Bei Blasenkatarrhen wird er zuweilen durch reichliche Beimengung von Schleim event. auch Eiweiss gallertig. Geschüttelt bildet der normale menschliche Harn Schaum, der in der Ruhe alsbald wieder verschwindet; bei Anwesenheit von Eiweiss oder viel Schleim ist der Schaum feinblasig und beständig.

Eine eigenthümlich zähe, schleimige Beschaffenheit zeigt häufig bei völliger Klarheit der Pferdeharn, so dass er beim Ausfliessen aus einem Gefässe sich in langen Fäden hinabzieht. Beim Kochen wird dieser Harn unter Ausscheidung von Calciumcarbonat und Abnahme seiner Zähigkeit getrübt.

458. **Klarheit.** Der frisch gelassene normale Harn von Menschen und fleischfressenden Säugethieren erscheint klar und durchsichtig, setzt aber Nubecula. nach kürzerem oder längerem Stehen ein Wölkchen (Nubecula) ab, welches aus Harnmukoïd (§ 405) besteht, und in dem Epithelzellen und (beim Menschenharn meist) bald einzelne mikroskopische Octaëder von Calciumoxalat nachzuweisen sind. Bei reichlicher Anwesenheit von Uraten trübt sich der klar gelassene menschliche Harn beim Abkühlen auf Zimmertemperatur und es Sedim. laterit. kommt zur Abscheidung des Sedim. later. (§ 123), das beim gelinden Erwärmen sofort wieder verschwindet. Ein trüber Harn kann nach vege-

tabilischer Nahrung ausgeschieden werden. Diese Trübung ist verursacht durch die Abscheidung von Carbonaten der alkalischen Erden und bedingt durch die alkalische Reaction des Harns (siehe § 461). Zusatz von Säuren macht den Harn wieder klar. Aus demselben Grunde ist der Harn der Pflanzenfresser meist mehr oder weniger trübe.

Ammoniakalische Harngährung.

Der in reinem Gefässe aufgefangene und bei kühler Temperatur aufbewahrte Harn hält sich mehrere Tage ziemlich unverändert, allmählich aber wird er unter dem Einfluss von Mikroorganismen, welche Harnstoff in Kohlensäure und Ammoniak zerlegen, alkalisch und in Folge dessen trübe. Das gebildete Ammoniak giebt sich durch den Geruch und dadurch zu erkennen, dass ein angefeuchtetes und über den Harn gehaltenes rothes Lacmuspapier blau wird, beim Trocknen aber seine blaue Farbe wieder verliert. Erfolgt diese ammoniakalische Harngährung schon in der Blase (Blasenkatarrh), so wird ebenfalls ein trüber Harn gelassen, der sich aber durch den Geruch und das Verhalten zu Lacmuspapier ohne Weiteres von einem Harne, dessen trübe Beschaffenheit durch fixes Alkali bedingt ist, unterscheiden lässt.

Die Sedimente, welche trübe gelassene oder trübe gewordene Harne bilden, untersucht man nach § 528 ff.

459. **Linksdrehung, Fluorescenz.** Fast alle Harne von Menschen und Säugethieren zeigen Linksdrehung und die meisten eine merkliche, wahre, weissliche Fluorescenz, die noch nicht auf einen bestimmten Stoff hat zurückgeführt werden können.

460. **Farbe.** Die Farbe des normalen Harns von Menschen und fast allen Thieren, soweit dieselben überhaupt flüssigen Harn liefern, ist ein mehr oder weniger gesättigtes Gelb. (Pferde- und Rinderharn ist fast immer dunkler, bräunlich, gefärbt.) Die Intensität der gelben Farbe geht im Allgemeinen Hand in Hand mit der Concentration. Ein concentrirter Harn von hohem spec. Gewicht hat eine dunkler gelbe, ein verdünnter mit niedrigem spec. Gewicht eine heller gelbe Farbe. Eine Ausnahme macht der diabetische Harn, der trotz seiner Concentration und seines hohen spec. Gewichts hellgefärbt ist. Beim Eindampfen in der Hitze wird die Farbe meist dunkler als der zunehmenden Concentration entspricht; auch beim Stehen kann die gelbe Farbe dunkler bis hellbraun werden.

Eine dunkle, bräunliche bis fast schwarze Färbung zeigen alle Harne, welche reich an aromatischer Substanz (aromatische Schwefel- und Glycuronsäuren) sind. Dieselbe ist bedingt durch Zersetzungsproducte dieser an sich farblosen aromatischen Stoffe. Solche Dunkelfärbung wird besonders beobachtet nach Einführung von Phenol, Kresol, Brenzcatechin, Gerbsäure, Indol. Einen dunklen Harn können auch Kranke mit melanotischen Tumoren ausscheiden. Derartige Harne können auch hell gelassen werden, nehmen aber beim Stehen eine dunkle Farbe an; letzteres ist auch der Fall bei der Alcaptonurie (§ 527).

Eine gelbgrüne, grüne oder braune Färbung zeigt der Harn bei Icterus wegen seines Gehalts an Gallenfarbstoffen.

Röthliche, gelbrothe, braunrothe oder braune Färbung kann auch bedingt sein durch einen Gehalt an Hämoglobin, Methämoglobin oder Hämatoporphyrin; Rothfärbung auch durch Anwesenheit von Blut, das sich durch im Sediment vorhandene rothe Blutkörperchen erkennen lässt, ferner durch vermehrten Gehalt an Urobilin, Urorosein, wie das bei fieberhaften Krankheiten und Digestionsstörungen vorkommt.

Auch nach Genuss von Chrysophansäure (Rhabarber, Sennesblätter) erscheint der Harn roth, aber nur wenn er alkalisch reagirt; auf Zusatz überschüssiger Säure wird er goldgelb.

Eine blaue Färbung oder auch ein blaues Häutchen mit rothem, metallischem Glanz oder ein Sediment von dieser Farbe wird im Harn wohl nur durch Bildung von Indigo aus Indoxylschwefel- oder glycuronsäure erzeugt. Der frische Harn zeigt nie diese Färbung.

461. **Reaction.** Die Reaction des Harns ist im Ganzen abhängig von der Nahrung. Fleischfresser sondern einen sauren, Pflanzenfresser einen neutralen oder alkalischen Harn ab. Während des Hungerns reagirt der Harn in allen Fällen sauer. Der Harn des Menschen ist bei gemischter Kost sauer, der einige Stunden nach einer reichlichen Mahlzeit gelassene schwächer sauer oder alkalisch wegen der Secretion des freie Salzsäure enthaltenden Magensaftes.

Die saure Reaction ist bedingt durch saures phosphorsaures Alkali (NaH_2PO_4), die alkalische durch das sogenannte neutrale phosphorsaure Alkali (Na_2HPO_4) oder Natriumcarbonat. Im letzteren Fall entsteht in dem stark concentrirten und eventuell filtrirten Harn auf Zusatz einer Säure Aufschäumen. Unter pathologischen Verhältnissen (Blasenkatarrh) kann die alkalische Reaction auch von Ammoniak herrühren (§ 458). Ein ammoniakalischer Harn verliert beim Sieden Ammoniak und wird sauer. Kleine Mengen in flacher Schale werden oft schon beim Stehen an der Luft sauer.

Zur Prüfung, ob an der sauren Reaction des Harns neben dem sauren Phosphat auch nicht flüchtige organische Säuren betheiligt sind, fällt man den Harn mit einem grossen Ueberschuss von Alkohol, filtrirt, verdampft bei mässiger Erhitzung in flacher Schale auf dem Wasserbade zum sehr kleinen Volumen, fällt nochmals mit absolutem Alkohol und prüft das wieder verdunstete Filtrat mit Lacmuspapier. Rührt die saure Reaction des Harns nur von sauren Phosphaten her, so röthet sich das Lacmuspapier nicht, während der durch den Alkohol hervorgerufene Niederschlag nach dem Befeuchten mit Wasser intensiv saure Reaction zeigt.

Bestimmung des Säuregrades.

462. Bestimmung des Säuregrades. Eine ganz exacte Methode ist trotz vielfacher Bemühungen nicht bekannt. Es erscheint am besten nach Naegeli[1]) in folgender Weise zu verfahren. Man verdünnt 10 ccm Harn mit etwa 90 ccm Wasser (um den störenden Einfluss der Eigenfarbe zu be-

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **30.** 313. (1900.)

seitigen), fügt 3—4 Tropfen einer 1 proc. alkoholischen Phenolphtaleïnlösung hinzu und darauf aus einer Bürette solange unter fortwährendem Umrühren $^{n}/_{10}$ Natronlauge, bis ein deutlich rother Farbenton bestehen bleibt. Der Vergleich mit einer daneben stehenden, ebenso verdünnten Portion desselben Harns erleichtert das Erkennen der Endreaction. Die verbrauchte Menge Lauge giebt in Cubikcentimetern $^{n}/_{10}$ Säure die Acidität des Harns an. Bei Controllbestimmungen wird die Differenz kaum grösser als 0,1—0,2 ccm sein.

Normale Bestandtheile des Harns.

Qualitative Prüfung auf anorganische Stoffe im Harne.

463. Die qualitative Prüfung auf die meisten anorganischen Stoffe lässt sich direct*) im Harn führen, im eiweisshaltigen nach vorheriger Entfernung des Eiweiss durch Kochen unter Zusatz von wenig Essigsäure**).

Natrium wird nachgewiesen durch Abdampfen des Harns und Prüfung einer Probe der auskrystallisirten Salze am Platindraht in der Flamme (§ 38).

Kalium. Auf Kalium prüft man 1. durch Fällung des Harns mit Platinchlorid unter Zusatz von Alkohol und Untersuchung des durch Filtration oder Decantation getrennten Niederschlags mit dem Spectralapparat (letzteres ist nöthig, um eine Verwechselung mit dem gleichfalls ausgefällten Ammoniumplatinchlorid auszuschliessen) oder 2. nach Salkowski[1]), indem man 100—200 ccm Harn auf etwa 15 ccm eindampft, nach dem Erkalten von den harnsauren Salzen abfiltrirt, das Filtrat mit 5 ccm conc. Weinsäurelösung versetzt und an einem kühlen Orte stehen lässt: Abscheidung eines Niederschlages, der nach dem Glühen auf Kali geprüft wird (§ 37).

Calcium und **Magnesium** werden direct im Harne nach §§ 39 und 40 nachgewiesen.

Eisen. Zum Nachweis des Eisens wird eine grössere Menge Harn nach §§ 429 und 430 eingedampft und verascht und die Aschelösung nach dem Erhitzen mit dem vier- bis fünffachen Vol. Wasser mit Rhodan- oder Ferrocyankalium geprüft (§ 41).

Salzsäure und **Schwefelsäure** werden direct im Harne nach §§ 46 und 49 nachgewiesen.

Aetherschwefelsäure. Wie Baumann nachgewiesen hat, findet sich im Harn stets ein Theil der Schwefelsäure in esterartiger Verbindung mit aromatischen Substanzen. Diese Aether- oder aromatischen Schwefelsäuren bilden lösliche Barytsalze und werden beim Erhitzen mit Mineralsäuren in

*) Die meisten der dabei erhaltenen Niederschläge können organische Stoffe (Harnsäure, harnsaures Ammoniak, Hippursäure, Schleim) enthalten. Man prüft auf diese Beimengungen, indem man die Niederschläge auf dem Platinblech glüht.

**) Hierbei bleibt ein Theil der phosphorsauren alkalischen Erden im Coagulum und kann erst nach der Veraschung aufgefunden werden.

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. 6. 209. (1872.)

die aromatischen Paarlinge und Schwefelsäure gespalten. Um Aetherschwefelsäure neben der Sulfatschwefelsäure nachzuweisen, säuert man nach Baumann den Harn mit Essigsäure an und fügt Chlorbarium in mässigem Ueberschusse hinzu. Ein Niederschlag zeigt die Anwesenheit von Sulfatschwefelsäure an. Die trübe Flüssigkeit wird auf dem Wasserbade digerirt, bis der Niederschlag sich gut abgesetzt hat, filtrirt und das klare Filtrat nach Zusatz von Salzsäure erhitzt. Es scheidet sich aufs Neue ein Niederschlag von Bariumsulfat ab, dessen Schwefelsäure aus den Aetherschwefelsäuren stammt.

Phosphorsäure. Man fügt Essigsäure und Uranacetatlösung direct zum Harne hinzu. Es entsteht ein gelblich weisser Niederschlag. Die Phosphorsäure ist zum Theil an alkalische Erden, zum Theil an Alkalien gebunden. Zum getrennten Nachweis fällt man den Harn mit Ammoniak, filtrirt den Niederschlag, welcher aus Calciumphosphat und Magnesiumammoniumphosphat besteht und dessen salpetersaure Lösung mit Ammonmolybdat auf Phosphorsäure geprüft werden kann, ab und versetzt das etwas eingedampfte Filtrat, welches die Alkaliphosphate enthält, mit Magnesiamischung (Anh.) (§ 50).

Salpetersäure. Zum Nachweis der Nitrate[1]), welche, aus der Nahrung (Wasser, Vegetabilien) stammend, in geringer Menge im normalen Harne vorkommen, bei Hunger, Milch- und Fleischnahrung aber fehlen (Röhmann), destillirt man nach Weyl 200 ccm frischen Harn mit 30—40 ccm conc. Schwefelsäure oder Salzsäure auf dem Sandbade und prüft das Destillat mit den üblichen Reactionen (Jodkaliumstärkekleister, m-Phenylendiamin oder Sulfanilsäure und α-Naphtylamin) auf salpetrige Säure, welche durch die reducirend wirkenden organischen Harnbestandtheile aus Salpetersäure entstanden ist.

Salpetrige Säure. Nitrite[1]) sind im frischen Harn nicht vorhanden, bei beginnender Zersetzung treten sie auf, bei fortschreitender verschwinden sie wieder. Sie entstehen ausschliesslich aus den Nitraten, nicht aus Ammoniak (Röhmann). Zu ihrem Nachweis dient die Reaction mit Jodkaliumstärkekleister und Schwefelsäure oder besser die Probe mit Sulfanilsäure und α-Naphtylamin. Der frische Harn giebt, wie gesagt, diese Reactionen nicht, sie fallen erst bei beginnender Zersetzung positiv aus.

Wasserstoffsuperoxyd findet sich im frischen Harne in Mengen, die aus unbekannten Ursachen schwanken, beim Stehen des Harns verschwindet es gänzlich, sobald die salpetrige Säure (siehe oben) auftritt. Die besten Reagentien für den Nachweis sind nach Schönbein[2]) verdünnte Indigolösung zusammen mit Eisenvitriollösung oder durch Wasserstoffsupersulfid entfärbte Indigolösung*) gleichfalls zusammen mit Eisenvitriollösung. 1. Tröpfelt man in 200g frischen Harn so viel Indigolösung, dass das Ge-

---

*) Zur Herstellung dieser Lösung tröpfelt man in durch Indigotinctur bis zur Undurchsichtigkeit tief gebläutes und mit etwas Schwefelsäure versetztes Wasser unter Umrühren vorsichtig eine Lösung von Mehrfachschwefelkalium, bis das Gemisch gerade völlig entbläut erscheint und filtrirt. Die Flüssigkeit ist klar und farblos, fängt aber bald an sich zu trüben und blau zu werden.

[1]) Schönbein, Journ. f. pract. Chem. **92**. 152. (1864.)
Röhmann, Zeitschr. f. physiol. Chem. **5**. 94 u. 233. (1881).
Weyl, Arch. f. pathol. Anat. **96**. 462. (1884.) **101**. 175. (1885.)
Arch. f. d. ges. Phys. **36**. 456. (1885.)

[2]) Journ. f. pract. Chem. **92**. 168. (1864.)

misch eine deutlich grüne Färbung zeigt, theilt es in 2 gleiche Hälften und fügt zu einer derselben 15—20 Tropfen verdünnte Eisenvitriollösung, so erscheint diese letztere Harnportion in Folge theilweiser oder gänzlicher Zerstörung des Indigos bald heller grün oder bräunlich gelb, während die eisensalzfreie Hälfte ihre anfängliche grüne Farbe noch immer zeigt. 2. Lässt man in 30—40g frischen Harns 8—12 Tropfen der durch Wasserstoffsupersulfid genau entfärbten Indigotinctur fallen, so wird das Gemisch anfangs sich nicht bläuen, dies aber beim Zufügen weniger Tropfen Eisenvitriollösung sofort thun (Schönbein).

Quantitative Bestimmung der Gesammtasche und des Trockenrückstandes im Harne.

464. Bestimmung der Gesammtasche. Sie geschieht genau nach den in § 451 gegebenen Vorschriften unter Benutzung von 10 ccm Harn. Bestimmung der Gesammtasche.

465. Bestimmung des Trockenrückstandes. Wenn man Harn auf dem Wasserbade verdunstet, so erhält man einen syrupartigen Rückstand, der nie völlig trocknet und fortdauernd Spuren von Ammoniak entwickelt. Die Ursache der Ammoniakentwickelung ist die Einwirkung des sauren Natriumphosphats auf den Harnstoff in sehr concentrirter Lösung; der Harnstoff wird nämlich beim starken Eindampfen der wässerigen Lösung durch dies Salz zerlegt zu Kohlensäure und Ammoniak, Ammoniak verbindet sich mit dem Phosphat zu $Na(NH_4)_2PO_4$, aber diese Verbindung zerlegt sich fortwährend wieder bei 100° unter Entwickelung von Ammoniak. Bestimmung des Trockenrückstandes.

Um nun trotz dieser unvermeidlichen Zersetzung eine Vorstellung vom Trockenrückstande des Harns zu erhalten, hat Neubauer folgende Methode angewendet: Durch ein cylindrisches, aus Blech gefertigtes Wasserbad geht in der Mitte senkrecht zur Axe des Cylinders ein Blechrohr von $2\frac{1}{2}$ bis 3 cm Durchmesser, in welches ein Glasrohr eingeschoben werden kann, in dem sich wieder ein Porzellanschiffchen befindet. Das Porzellanschiffchen ist etwa 7 bis 8 cm lang und 1,4 cm breit und zu $\frac{2}{3}$ mit nicht zu kleinen Glassplittern gefüllt. Die Glasröhre, in dem sich das Schiffchen befindet, ist an einem Ende zu einer feineren, längeren Röhre ausgezogen, die rechtwinklig nach abwärts umgebogen durch die eine Bohrung eines doppelt durchbohrten Korkes in einen Kolben führt. Dieser Kolben enthält ein abgemessenes Volumen titrirter Schwefelsäure. Das Rohr mündet unter dem Niveau der Säure; in der zweiten Bohrung des Korkes befindet sich ein Glasröhrchen, welches den Luftraum im Kolben mit einem Aspirator verbindet. An das andere Ende der Glasröhre, welche das Porzellanschiffchen enthält, ist mittelst eines Stopfens eine mit Chlorcalciumstücken gefüllte Röhre angefügt. Beschreibung des Apparates.

Man trocknet zunächst das Porzellanschiffchen mit den Glasstücken und wägt es in einer Röhre, die mit einem mit Stanniol überzogenen Korke verschlossen ist, lässt dann genau 2 ccm Harn aus einer feinen Pipette in das Schiffchen fliessen, schiebt dies in die oben beschriebene, an einem Ende ausgezogene Röhre, verschliesst letztere, heizt das Wasserbad und lässt einen mässigen Luftstrom etwa 3 Stunden erst durch das Chlorcalciumrohr, dann über das Schiffchen mit Harn, von da durch das Kölbchen mit titrirter Säure hindurchgehen und wägt darauf wieder das Schiffchen mit dem Harnrückstand in demselben Glasrohre, in dem es vor der Einbringung des Harns gewogen war. Man spült nun das Glasrohr, in welchem das Schiffchen erhitzt wurde, mit Wasser aus und lässt dies Spülwasser in das Kölbchen mit Schwefelsäure einfliessen, nimmt dann dies Kölbchen ab, bestimmt mit einer titrirten Natronlauge, wie viel Schwefelsäure während des Trocknens durch Ammoniak neutralisirt ist, und berechnet hieraus die Menge des zersetzten Harnstoffes. Der im Schiffchen gewogene feste Rückstand des Harns, addirt zur berechneten Quantität von Harnstoff, giebt dann den wirklichen Ausdruck für das Gewicht der in 2 ccm Harn gelösten Stoffe. Ausführung der Bestimmung.

Näheres über diese Methode siehe bei Huppert, Analyse des Harns. 10. Aufl. S. 701.

Quantitative Bestimmung der anorganischen Stoffe im Harne.

466. **Natrium** und **Kalium**. Man verascht 20—100 ccm Harn nach §§ 429 u. 430 und verfährt weiter nach § 433.

Zur annähernden Bestimmung des Kaliums kann man nach Salkowski in der § 463 zur qualitativen Prüfung auf Kalium angegebenen Weise verfahren. Nach 24 Std. hat sich das saure weinsaure Kalium abgesetzt; es wird zuerst mit schwachem, dann mit 80 proc. Alkohol bis zum Verschwinden der Chlorreaction decantirt, auf dem aschefreien Filter ausgewaschen, bei 100° getrocknet, durch Abdampfen mit Schwefelsäure und Glühen unter Zusatz von Ammoncarbonat in Kaliumsulfat verwandelt und dieses gewogen. Resultate annähernd.

467. **Calcium** und **Magnesium**. a) im eiweissfreien Harne.

Calcium. Man misst 200 ccm ab, macht mit Ammoniak alkalisch, bringt den entstandenen Niederschlag durch möglichst wenig Salzsäure wieder in Lösung, fügt essigsaures Natrium hinzu und fällt mit Ammonoxalat. Nach 12 stündigem Stehen an einem warmen Ort wird der Niederschlag abfiltrirt und weiter nach den § 434, a 1 gegebenen Vorschriften behandelt. Die Bestimmung mit Permanganat (§ 434, a 2) ist wegen der organischen Beimengungen unzulässig.

Magnesium. Aus dem klaren Filtrat (+ Waschwasser) der Calciumoxalatfällung wird Magnesium durch Zusatz von Ammoniak als phosphorsaure Ammoniak-Magnesia ausgefällt. Ueber das Weitere siehe § 434, b.

b) Im eiweisshaltigen Harn. Man verascht 200 ccm Harn nach §§ 429 und 430 und verfährt weiter nach den § 434 gegebenen Vorschriften.

468. **Eisen**. Concentrirung, Veraschung und Bestimmung geschehen nach §§ 429, 430 u. 436 unter Benutzung von 500 ccm Harn.

469. **Salzsäure**. a) Im eiweissfreien Harne.

Titration nach Mohr.

1. Titration nach Mohr (§ 442). Man benutzt 10 ccm Harn, fügt ungefähr 90 ccm Wasser und nicht zu wenig Kaliumchromatlösung hinzu. Dieses Verfahren liefert immer etwas zu hohe Werthe, da der Harn neben dem Chlor noch mehr oder weniger andere Stoffe enthält, welche bei neutraler Reaction durch Silbernitrat gefällt werden und eine grössere Affinität zum Silber haben als die Chromsäure. Bei mittlerem Chlorgehalt kann man den Fehler in der Regel dadurch ausschalten, dass man von den verbrauchten ccm Silberlösung 1 ccm abzieht und aus dem Rest den Chlorgehalt berechnet. Der Fehler wird im Ganzen um so grösser sein, je weniger Chlor der Harn enthält.

Titration nach Volhard.

2. Titration nach Volhard. Dieses Verfahren, welches sehr genaue Resultate liefert, ist von Arnold und fast gleichzeitig von E. Salkowski für den Harn modificirt worden.

Princip. Säuert man ein abgemessenes Volumen Harn mit Salpetersäure stark an, fügt eine bestimmte aber überschüssige Menge einer Silberlösung von bekanntem Gehalt hinzu, filtrirt von dem entstandenen Chlor-

silberniederschlag ab und ermittelt die in dem Filtrat vorhandene Silbermenge, so erfährt man durch Subtraction die Menge Silber, welche von dem Chlor gebunden worden ist. Die Bestimmung des im Filtrat vorhandenen Silbers geschieht durch Titration mit einer Schwefelcyankaliumlösung von bekanntem Gehalt unter Anwendung von einem Eisenoxydsalz als Indicator. Eine salpetersaure Lösung, die Silbernitrat und Eisenoxydsalz enthält, giebt auf Zusatz von Schwefelcyankalium zunächst einen weissen Niederschlag von Schwefelcyansilber und erst, wenn alles Silber ausgefällt ist, einen rothen von Schwefelcyaneisen.

Erforderliche Lösungen: 1. Die § 442 beschriebene Lösung von Silbernitrat.
2. Reine Salpetersäure vom spec. Gew. 1,2.
3. Conc. Lösung von chlorfreiem Eisenammoniakalaun, der käuflich rein zu haben ist.
4. Eine titrirte Lösung von Schwefelcyankalium (siehe folgenden Absatz).

Herstellung der titrirten Schwefelcyankaliumlösung. Man löst etwa 9 g reines käufliches Schwefelcyankalium in Wasser, verdünnt zu ungefähr 1000 ccm und füllt mit der gut gemischten Lösung eine Bürette. Andererseits bringt man 10 ccm obiger Silberlösung in einen Kolben, fügt etwa 90 ccm Wasser, 4 ccm der Salpetersäure und 5 ccm der Eisenammoniakalaunlösung hinzu und lässt nun die Schwefelcyankaliumlösung in kleinen Portionen unter gutem Umschütteln bis zur bleibenden schwachen Rothfärbung zufliessen. Die Titrirung wird wiederholt und darauf die Schwefelcyankaliumlösung mit soviel Wasser versetzt, dass 20 ccm von ihr 10 ccm der Silberlösung äquivalent werden.

Ausführung. In einen Maasskolben von 100 ccm Inhalt bringt man nacheinander 10 ccm Harn, ungefähr 50 ccm Wasser, 4 ccm Salpetersäure, 20 ccm Silberlösung und Wasser bis zur Marke, schüttelt gut um und filtrirt durch ein trocknes Filter und unter Benutzung eines trocknen Trichters in ein trocknes Maasskölbchen von 50 ccm Inhalt genau bis zur Marke. Der Inhalt dieses Kölbchens wird in einen Kolben von ungefähr 250 ccm Inhalt gegossen, mit etwas Wasser nachgespült, 5 ccm Eisenammoniakalaunlösung zugefügt und mit Schwefelcyankaliumlösung bis zum Eintritt einer schwachen bleibenden Rothfärbung titrirt.

Die Berechnung ist nach dem oben Gesagten einfach. Da 20 ccm der Schwefelcyankaliumlösung 10 ccm der Silberlösung entsprechen, so sind genau soviel ccm der Silberlösung der Fällung durch Chlor entgangen, als ccm Schwefelcyankaliumlösung für 50 ccm (die Hälfte) des Filtrats erforderlich waren. Zieht man diese Zahl von 20 (die Menge der zugesetzten Silberlösung) ab, so erfährt man, wie viel ccm Silberlösung zur Ausfällung des in 10 ccm Harn enthaltenen Chlors verbraucht wurden. 1 ccm der Silberlösung entspricht 0,01 g NaCl oder 0,00606 g Cl. Waren z. B. bis zum Eintritt der Endreaction 9,5 ccm Schwefelcyankaliumlösung nöthig, so enthalten 10 ccm Harn (20—9,5) . 0,01 = 0,105 g NaCl.

Ist der Harn sehr dunkel gefärbt, so ist es zweckmässig, neben dem Eisenoxydammoniakalaun schliesslich bei der Titrirung einige Tropfen einer conc. Lösung von übermangansaurem Kali zuzufügen, welche Entfärbung bewirken.

Um mit der Methode von Volhard im Hundeharne gute Resultate zu erhalten, muss man zunächst die unterschweflige Säure und die Schwefelcyansäure durch Reduction mit Zink und Schwefelsäure auf dem Wasserbade entfernen (Gruber[1]), v. Mering[2]).

Bestimmung im eiweisshaltigen Harn.

b) Im eiweiss (pepton-, mucin-) haltigen Harne.

1. Nach vorausgegangener Veraschung*) durch Titration nach Mohr. Man dampft 10 ccm Harn in einer Platinschale ab, versetzt den Rückstand mit ungefähr 1 g chlorfreier Soda und 2—4 g reinem Salpeter und erhitzt, von einer Seite her beginnend, zunächst vorsichtig allmählich etwas stärker bis zum Schmelzen und zur Entfernung der Kohle. Die Schmelze wird nach dem Erkalten in Wasser unter mässigem Erwärmen gelöst, die Lösung mit Salpetersäure angesäuert, mit einer Messerspitze Calciumcarbonat neutralisirt und ohne vorherige Filtration nach Mohr titrirt (§ 442).

2. Nach den § 443 gegebenen Vorschriften, aber unter Benutzung der § 442 angegebenen Silberlösung.

470. **Schwefelsäure und Aetherschwefelsäure.** Die Bestimmung kann nach Baumann[3]) in der für den qualitativen Nachweis angegebenen Weise (§ 463) erfolgen. Bequemer ist es, einem Vorschlag von Salkowski[4]) folgend, in einer Harnportion die Gesammtschwefelsäure, in einer andern die Aetherschwefelsäure zu ermitteln und aus der Differenz beider die als anorganisches Salz vorhandene (Sulfatschwefelsäure) zu erfahren:

Bestimmung der Gesammtschwefelsäure.

1. Gesammtschwefelsäure. 100 ccm unverdünnter (oder nach Bedürfniss verdünnter), eiweissfreier Harn**) werden mit 10 ccm Salzsäure (spec. Gew. 1,12) 15 Min. (vom beginnenden Sieden an gerechnet) auf dem Drahtnetz erhitzt, mit Bariumchloridlösung im Ueberschuss versetzt und auf dem Wasserbade bis zum vollständigen Absitzen des Niederschlags erwärmt. Der Niederschlag wird durch aschefreies Filter filtrirt, mit warmem Wasser chlorfrei, dann mit Alkohol und Aether gewaschen und in einem gewogenen Platintiegel verbrannt, nach Zufügen einiger Tropfen Schwefelsäure geglüht und gewogen. Zusatz von Schwefelsäure und Glühen wird wiederholt, bis das Gewicht constant ist. Die gefundene Menge Bariumsulfat rechnet man nach der Tabelle im Anhange auf Schwefelsäure um.

---

*) Diese Methode, welche im Wesentlichen von Neubauer angegeben worden ist, wurde von Salkowski verbessert, indem er, um eine Verflüchtigung von Salzsäure beim starken Erhitzen zu vermeiden, den Sodazusatz empfahl. Zeitschr. f. physiol. Chem. **1.** 16. (1878.) u. **2.** 397. (1879.)

**) Eiweisshaltiger Harn wird nach S. 427 Anm. von Eiweiss befreit.

1) Zeitschr. f. Biol. **19.** 569. (1883.)

2) Zeitschr. f. physiol. Chem. **8.** 229. (1884.)

3) Ebendas. **1.** 70. (1878.)

4) Arch. f. pathol. Anat. **79.** 551. (1880.) Zeitschr. f. physiol. Chem. **10.** 346.

2. Aetherschwefelsäure. 100 ccm desselben Harns werden mit dem gleichen Volumen einer Barytmischung (2 Vol. kaltgesättigtes Barytwasser und 1 Vol. kaltgesättigte Chlorbariumlösung) in einem trocknen Gefäss vermischt und durch ein trocknes Filter in ein trocknes Becherglas filtrirt. 160 ccm von dem Filtrat (= 80 ccm Harn) neutralisirt man mit Salzsäure, fügt 15 ccm Salzsäure (spec. Gew. 1,12) hinzu und verfährt weiter wie unter 1 angegeben, nur ohne Chlorbariumzusatz. Bestimmung der Aetherschwefelsäure.

471. **Phosphorsäure.** Die Bestimmung der Phosphorsäure geschieht mit hinreichender Genauigkeit durch Titration mit Uranacetat. Anwesenheit von Eiweiss stört nicht.

Princip. Uranacetat giebt mit phosphorsauren Verbindungen in essigsaurer Lösung einen gelblichweissen, flockigen, unlöslichen Niederschlag von der Zusammensetzung $(UrO_2)HPO_4$. Zur Erkennung eines Ueberschusses von Uranlösung benutzt man entweder Ferrocyankaliumlösung, welche in sauren Uranlösungen einen selbst bei ausserordentlicher Verdünnung der Flüssigkeiten noch deutlich wahrnehmbaren dunkelbraunen Niederschlag oder Cochenilletinctur, welche einen grünen giebt. Titration mit Uranacetat.

Erforderliche Lösungen. 1. Eine Lösung, die in 100 ccm 0,2 g P_2O_5 enthält. Eine 1,0094 proc. Lösung von Natriumphosphat ($Na_2HPO_4 + 12\,H_2O$) entspricht dieser Anforderung. Da aber dieses Salz sehr leicht verwittert und desshalb nicht genau abgewogen werden kann, empfiehlt es sich, ungefähr 12 g abzuwägen und in 1 Liter Wasser zu lösen, von dieser Lösung 50 ccm einzudampfen, den Rückstand zu glühen und zu wägen (pyrophosphorsaures Natron) und nun mit Hülfe dieses Werthes und unter Berücksichtigung, dass 50 ccm einer 1,0094 proc. Lösung von Natriumphosphat beim Eindampfen und Glühen 0,1875 g pyrophosphorsaures Natrium liefern müssen, diejenige Menge Wasser zu berechnen, mit der die Lösung zu verdünnen ist.

2. Essigsäuremischung. Man löst 100 g krystallisirtes Natriumacetat in Wasser, fügt 100 ccm starke Essigsäure hinzu und verdünnt die Mischung im Literkolben auf 1 Liter.

3. Ferrocyankaliumlösung.

4. Cochenilletinctur (wässrig-alkoholischer Cochenilleauszug).

5. Titrirte Lösung von Uranacetat (siehe folgenden Absatz).

472. Herstellung der titrirten Uranacetatlösung. Etwa 35 g Uranacetat werden in etwa einem Liter Wasser unter Erwärmen gelöst und filtrirt. Man fügt zu 50 ccm der obigen Natriumphosphatlösung 5 ccm der Essigsäuremischung hinzu, erwärmt auf kochendem Wasserbade (oder auf freiem Feuer fast bis zum Sieden) und lässt nun in kleinen Portionen aus einer Bürette die Uranacetatlösung zufliessen, solange die Vermehrung des Niederschlages deutlich erkennbar ist. Dazwischen ist immer wieder für kurze Zeit zu erwärmen. Ist die Zunahme des Niederschlags nicht mehr deutlich, so nimmt man nach jedem neuen Zusatz von Uranacetat und jedesmaligem kurzen Erwärmen einen Tropfen der Mischung heraus, lässt ihn mit einem auf einer weissen Porzellanplatte befindlichen Tropfen Ferrocyankaliumlösung zusammenfliessen und beobachtet, ob dabei eine leichte Braunfärbung (Ferrocyanuran) auftritt. Die erste Andeutung einer schwachen Braunfärbung

dient als Endreaction, denn sie beweist, dass alle Phosphorsäure ausgefällt und sich ein geringer Ueberschuss von Uranacetat in der Mischung befindet. Hat man auf diese Weise erfahren, wie viel Uranlösung erforderlich ist, um 0,1 g P_2O_5 zu fällen, so verdünnt man sie soweit mit Wasser, dass 20 ccm gerade 0,1 g P_2O_5 oder 1 ccm 0,005 g P_2O_5 entsprechen.

Vielleicht noch einfacher kommt man zum Ziel, wenn man, statt des Ferrocyankaliums als Indicator Cochenilletinctur benutzend, zu der Mischung von 50 ccm obiger Natriumphosphatlösung und 5 ccm Essigsäuremischung einige Tropfen Cochenilletinctur hinzugefügt, erwärmt und nun so lange vorsichtig und unter Umschütteln und Erwärmen Uranacetatlösung zufliessen lässt, bis die rothe Farbe in eine grünliche umschlägt. Man kann auch gleichzeitig beide Indicatoren benutzen.

Ausführung. Man misst in ein Becherglas 50 ccm oder von conc. Harnen 20 ccm ab, fügt 5 bezw. 2 ccm der Essigsäuremischung hinzu, erwärmt und verfährt ganz wie es zur Titerstellung der Uranlösung eben angegeben ist unter Anwendung von Ferrocyankalium oder Cochenilletinctur als Indicator. Die Zahl der bis zur Endreaction verbrauchten Cubikcentimeter Uranlösung ergeben mit 5 multiplicirt die Menge P_2O_5 in Milligrammen.

473. **Salpetersäure.** Für die quantitative Bestimmung der Salpetersäure hat Röhmann[1]) die Methode von Franz Schulze (Reduction der Salpetersäure zu Stickoxyd beim Kochen mit Salzsäure und Eisenchlorür und Messung des über Natronlauge aufgefangenen Stickoxyds) benutzt und sehr brauchbar gefunden.

Nachweis und Bestimmung des Ammoniaks im Harne.

Nachweis. 474. Zum Nachweis versetzt man den sauren oder neutralen Harn mit etwas Alkohol, filtrirt, wenn ein Niederschlag entsteht, fügt zum Filtrat einige Tropfen Platinchlorid, lässt einige Stunden stehen, giesst die Flüssigkeit von den ausgeschiedenen Platindoppelsalzen ab, spült den Niederschlag mit etwas Alkohol ab und prüft ihn nach dem Trocknen in einem trocknen Röhrchen durch Erhitzen. Enthält er Ammoniumplatinchlorid, so sublimirt beim starken Erhitzen Salmiak, der sich weiter oben im Röhrchen als weisse, aus feinen, federartigen Nadeln bestehende Masse niederschlägt.

Noch einfacher ist es, den Harn in einem Kolben mit Kalkmilch zu versetzen, und den Kolben mit einem Stopfen, an dem ein angefeuchteter, rother Lacmuspapierstreifen befestigt ist, zu verschliessen. Nach einiger Zeit tritt Bläuung des Lacmuspapiers ein (§ 52).

Kohlensaures Ammoniak, das nur bei Zersetzung des Harns innerhalb der Blase im frisch gelassenen Harn erscheint, giebt sich durch den Geruch zu erkennen. Ein solcher Harn reagirt alkalisch, ist trübe und entwickelt auf Säurezusatz Kohlensäure (§ 458 u. § 461).

Bestimmung nach Schlösing. 475. Zur quantitativen Bestimmung im eiweissfreien Harne dient das Verfahren von Schlösing: Unter eine Glasglocke, die mit abgeschliffenem

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **5**. 233. (1881.)

Rand auf einer Glasplatte mit etwas Fett luftdicht aufgesetzt wird, bringt man eine Schale mit 20 ccm $^{n}/_{10}$ Schwefelsäure, darüber setzt man ein Dreieck von Glas und auf dieses eine Schale mit 20 ccm des filtrirten Harns, dem Thymol zugesetzt wird. Unmittelbar vor dem Aufsetzen der Glasglocke werden zu dem Harne etwa 20 ccm Kalkmilch gegossen. Nach 3 Tagen, bei sehr concentrirten Harnen nach 5—8 Tagen öffnet man den Apparat und titrirt die Schwefelsäure in der Schale nach Zusatz von etwas Rosolsäure mit $^{n}/_{10}$ Natronlauge zurück. Jeder Cubikcentimeter der Natronlauge, der weniger als 20 verbraucht wird, entspicht 1,707 mg NH_3.

Für Menschen-, Hunde- u. Kaninchenharn liefert diese Methode gute Werthe. Ueber die Bestimmung bei Eiweissgehalt s. „Untersuchung der serös. Flüssigk.".

476. Folin[1]) empfiehlt folgendes Verfahren, welches in weit kürzerer Zeit zum Ziele führt. 10 ccm Harn werden in einem Kolben mit 450 ccm Wasser und 0,5 g Magnesia usta 45 Minuten (vom beginnenden Kochen an gerechnet) in dem § 453 beschriebenen Apparat destillirt. In der Vorlage befinden sich 20 ccm $^{n}/_{10}$ Schwefelsäure. Nach 45 Minuten ersetzt man die Vorlage durch eine andere in derselben Weise vorbereitete, bringt in den Kolben eine dem Destillate annähernd gleiche Menge kochenden Wassers und destillirt (unter Benutzung derselben Gasflamme) abermals 45 Minuten. Nun titrirt man in beiden Vorlagen (nach dem Aufkochen und Wiedererkalten) mit $^{n}/_{10}$ Lauge zurück, zieht die für die zweite Vorlage verbrauchten Cubikcentimeter von den für die erste verbrauchten ab und berechnet aus dem Rest das Ammoniak. Bestimmung nach Folin.

Diese Methode beruht auf der von Folin festgestellten Thatsache, dass die Zersetzung des Harnstoffs unter gleichen Bedingungen stets gleichmässig verläuft. Durch die zweite Titration wird die aus dem Harnstoff stammende Ammoniakmenge ermittelt.

Bestimmung des Gesammtstickstoffs im Harne.

Diese Bestimmung wird jetzt allgemein nach dem Verfahren von Kjeldahl (§ 453, a) ausgeführt.

477. Verfahren nach Liebig-Pflüger (Harnstofftitrirung nach Liebig). Durch diese Methode wird nicht, wie man früher annahm, der Harnstoff, sondern der Gesammtstickstoff bestimmt. Sie ist durch das Kjeldahlverfahren (§ 453), dem sie an Genauigkeit nachsteht, mit Recht ziemlich verdrängt worden, kann aber unter Umständen noch werthvolle Dienste leisten, da sie keinerlei Abzugsvorrichtung, welche bei der Ausführung der Kjeldahlbestimmung nicht zu entbehren ist, erfordert. Bestimmung nach Liebig-Pflüger.

Princip. Fügt man zu einer verdünnten Harnstofflösung eine Lösung von Mercurinitrat in ziemlich continuirlichem Strome, so lange noch ein Niederschlag entsteht und selbst in geringem Ueberschusse, so entsteht ein weisser Niederschlag von der Zusammensetzung $2\,CO(NH_2)_2 \cdot Hg(NO_3)_2 \cdot 3\,HgO$. Eine Harnstofflösung, der Quecksilberlösung in einer zur Ausfällung des gesammten Harnstoffs unzureichenden Menge zugesetzt ist, giebt mit überschüssiger Sodalösung einen weissen Niederschlag, ist dagegen bereits ein geringer Ueberschuss an Mercurinitratlösung vorhanden, so ruft Soda einen gelben Niederschlag hervor. Das Auftreten dieses gelben Niederschlags dient als Endreaction. (Im Harne tritt die Endreaction erst auf, wenn auch die meisten andern stickstoffhaltigen Bestandtheile durch Quecksilberlösung gefällt sind).

Enthält die zu titrirende Harnstofflösung Chlornatrium, so bildet sich zunächst beim Hinzufügen von Mercurinitratlösung Quecksilberchlorid und Natriumnitrat und da

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **32**. 515. (1901.)

das Quecksilberchlorid Harnstoff nicht fällt, entsteht erst dann ein Niederschlag, wenn alles Chlor an Quecksilber gebunden ist*). Die hierdurch für die Harnstoffbestimmung im Harne bedingte Ungenauigkeit wird durch eine vorausgehende Ausfällung des Chlors durch Silberlösung vermieden. Da die Phosphate sich ebenfalls mit dem Mercurinitrat umsetzen, so sind auch diese vor der Titrirung zu entfernen.

Erforderliche Lösungen: 1. Harnstofflösung. Man löst 6 g (längere Zeit im Exsiccator bis zum constanten Gewicht getrockneten) reinen Harnstoff in etwas Wasser und verdünnt die Lösung auf 300 ccm.

2. Barytmischung. Man mischt 2 Vol. kalt gesättigtes Barytwasser mit 1 Vol. kalt gesättigter Lösung von Bariumnitrat und bewahrt die Mischung in gut verschlossener Flasche auf.

3. Die für die Titrirung nach Mohr (§ 442) nöthigen Reagentien.

4. Natriumcarbonatlösung. 53 g reine geglühte Soda in 1 Liter Wasser.

5. Titrirte Quecksilberlösung (siehe folgenden Absatz).

Herstellung der titrirten Quecksilberlösung. Reine conc. Mercurinitratlösung (die mit Kochsalzlösung keine Trübung geben darf) wird mit Wasser ungefähr bis zum spec. Gew. 1,10 verdünnt und in eine Bürette gefüllt, in eine zweite Bürette kommt die Harnstofflösung und in eine dritte die Sodalösung. Man bringt nun einige Cubikcentimeter der letzteren in ein auf einer schwarzen Unterlage stehendes Uhrglas, in ein Becherglas genau 10 ccm der Harnstofflösung und dazu in einzelnen Portionen so lange Quecksilberlösung, bis ein Tropfen der gut umgerührten Mischung, mit einem Glasstab vorsichtig in die Sodalösung im Uhrglase vom Rande her eingebracht, in wenigen Secunden eine deutliche Gelbfärbung hervorruft. Man giesst dann die Sodalösnng mit den einzelnen Proben aus dem Uhrglase in das Becherglas, fügt Sodalösung aus der Bürette bis zur ganz schwach sauren Reaction der Mischung hinzu und prüft abermals, ob ein Tropfen in der Sodalösung den gelben Niederschlag hervorruft. Ist dies nicht der Fall, so fügt man noch weitere kleinere Portionen Quecksilberlösung bis zum Eintritt der Endreaction hinzu, neutralisirt nahezu mit gemessener Menge Sodalösung und prüft abermals. Hat man auf diese Weise annähernd ermittelt: 1. wie viel Cubikcentimeter Quecksilberlösung und 2. wie viel Cubikcentimeter Sodalösung (zur annähernden Neutralisirung) erfordert werden, so wiederholt man die ganze Titrirung, indem man zu 10 ccm Harnstofflösung gleich auf einmal soviel Quecksilberlösung und unter fortdauerndem Umrühren so viel Sodalösung zufliessen lässt, als bei der ersten Titrirung gebraucht worden waren. Die Endreaction wird jetzt ausbleiben und erst eintreten, wenn noch eine oder mehrere kleine Portionen Quecksilberlösung (nebst der erforderlichen Menge Sodalösung) zugefügt worden sind. Wiederholt man diese Titrirung abermals in derselben Weise, indem man nämlich sofort die ganze bei der zweiten Titrirung verbrauchte Quantität Quecksilberlösung zur Harnstofflösung hinzufügt, darauf sogleich die gleichfalls corrigirte Natriumcarbonatmenge unter stetem Umrühren einfliessen lässt, so wird jetzt entweder sofort die Endreaction bei Einbringung einer Probe der Mischung in ein Paar Tropfen Sodalösuug eintreten, oder nur ganz wenig Quecksilberlösung und Natriumcarbonat hinzuzumischen sein, um sie hervorzurufen.

Die Quecksilberlösung soll nun so weit verdünnt werden, dass 20 ccm derselben gerade 10 ccm Harnstofflösung entsprechen. Man fügt aber zweckmässig nicht gleich die ganze Menge des berechneten Wassers hinzu, sondern etwas weniger, prüft die Lösung nochmals in der beschriebenen Weise mit 10 ccm Harnstofflösung, fügt wieder etwas weniger Wasser hinzu als die Berechnung ergiebt, prüft wieder, wiederholt die Prüfung

---

*) Auf dieses Verhaltenhat hat Liebig eine Titration des Chlornatriums im Harne gegründet, indem er den entstehenden Niederschlag als Endreaction der Titrirung benutzte.

mit 10 ccm Harnstofflösung u. s. w., bis man gerade die richtige Verdünnung erreicht hat, d. h. bis gerade 20 ccm der Quecksilberlösung erforderlich sind, um in 10 ccm Harnstofflösung allen Harnstoff auszufällen und die Endreaction hervorzurufen. Nähert man sich nicht sehr vorsichtig dem richtigen Verdünnungsgrade, so erhält man gewöhnlich gleich eine zu verdünnte Lösung.

1 ccm dieser Lösung entspricht 0,01 g Harnstoff.

Ausführung. Man füllt ein Probirgläschen zweimal mit dem (eiweissfreien*) Harn, giesst in ein Becherglas aus, füllt dasselbe Probirgläschen dann noch einmal mit der Barytmischung, giesst dieselbe zu dem abgemessenen Harnvolumen, schüttelt um, filtrirt und prüft, ob ein Tropfen Barytmischung in dem Filtrate noch einen Niederschlag hervorruft. Ist das der Fall, so mischt man am Besten eine neue Portion des Harns mit dem gleichen Volumen Barytmischung, filtrirt und wiederholt die Prüfung. Phosphorsäurereiche Harne, z. B. Hundeharn, müssen oft mit dem doppelten Volumen Barytmischung versetzt werden, um völlig von Phosphorsäure befreit zu werden. Bei (unter Essigsäurezusatz) enteiweissten Harnen ist darauf zu achten, dass durch die Barytmischung die Reaction des Gemisches alkalisch wird.

Ist das Filtrat frei von Phosphorsäure, so misst man davon eine Quantität ab, welche 10 ccm Harn enthält. Waren also 2 Volumina Harn mit 1 Volumen Barytmischung versetzt, so misst man vom Filtrat 15 ccm ab; war der Harn mit dem gleichen Volumen Barytmischung versetzt, so benutzt man 20 ccm des Filtrats u. s. w.

Jetzt fügt man soviel Cubikcentimeter Silberlösung hinzu, als durch eine besondere Bestimmung nach Mohr (§ 442) zur Ausfällung der Chloride in 10 ccm Harn ermittelt worden sind, und titrirt, ohne das Chlorsilber abzufiltriren, ganz ebenso wie oben bei der Herstellung der Quecksilberlösung angegeben. 4—5 ccm Quecksilberlösung kann man sofort ohne weitere Prüfung zusetzen, wenn der Harn nicht augenscheinlich sehr verdünnt ist. Die Titrirung wird um so genauer, je häufiger sie wiederholt und je schneller die Zumischung der ganzen Quecksilbermenge und der erforderlichen Sodalösung zur Harnstofflösung geschieht. Eine zweimalige Wiederholung ist jedenfalls nöthig.

Correctur. Es ist zu berücksichtigen, dass die Titrirung nur für 2 proc. Harnstofflösungen genaue Resultate giebt. Um den Fehler, der durch zu grosse Verdünnung (und bei der beschriebenen Ausführung wird die Flüssigkeit stets weniger wie 2 pCt. Harnstoff enthalten) bedingt ist, auszugleichen, zieht man nach Pflüger die Anzahl der bis zur Endreaction verbrauchten Cubikcentimeter Quecksilberlösung ab von der Summe der verbrauchten Cubikcentimeter Harnbarytmischung + Silberlösung + Sodalösung und findet durch Multiplication dieser Differenz mit 0,08 die Anzahl Cubikcentimeter, welche von der Anzahl der verbrauchten Cubikcentimeter abzuziehen sind. Sind z. B. für 15 ccm Harnbarytmischung 10 ccm Silberlösung, 16 ccm Quecksilberlösung und 11,5 ccm Sodalösung verbraucht, so ist nach Pflüger $[(15 + 10 + 11,5) - 16] \cdot 0,08 = 1,64$ ccm von 16 ccm in Abzug zu bringen.

Berechnung. Hat man den Correcturabzug gemacht, so giebt der Rest der bis zur Endreaction verbrauchten Cubikcentimeter Quecksilberlösung in Centigrammen die Menge Harnstoff in 10 ccm Harn an. Die durch Multiplication mit 0,467 auf Stickstoff umgerechneten Harnstoffwerthe stimmen mit den nach Kjeldahl (§ 453, a) gefundenen Stickstoffwerthen annähernd überein.

---

*) Quantitative Entfernung von Eiweiss aus Harn. Man erhitzt 100 ccm Harn in einer Schale zum Kochen, fügt vorsichtig verdünnte Essigsäure tropfenweise hinzu, bis eine gute, flockige Gerinnung eingetreten ist, dampft etwas ein, filtrirt durch ein kleines Filterchen in einen Maasscylinder und wäscht Schale und Filter mit kleinen Portionen Wasser so lange nach, bis das Filtrat genau 100 ccm beträgt. Quantitative Entfernung von Eiweiss aus Harn.

Nachweis und Bestimmung des Harnstoffs im Harne.

478. Der Nachweis geschieht nach der Isolirung (§ 109) in der § 111 angegebenen Weise.

Die Bestimmungsmethoden sind indirecte, insofern als in allen Fällen eine Zersetzung des Harnstoffs und eine quantitative Bestimmung eines der Spaltungsproducte vorgenommen wird. Bei der hydrolytischen Spaltung (Erhitzen mit Wasser, Säuren, Alkalien) entstehen Kohlensäure und Ammoniak, bei der oxydativen (Einwirkung von salpetriger Säure, unterbromig- oder unterchlorigsaurem Natron) Stickstoff und Kohlensäure.

Da auch andere im Harne vorkommende Stoffe (Harnsäure, Kreatinin, Purinbasen u. a.) dieselben Zersetzungsproducte liefern, so werden die Bestimmungen um so genauer ausfallen, je mehr es gelingt, den Harnstoff vor der Spaltung zu isoliren. Es ist ferner von Bedeutung ein Spaltungsverfahren anzuwenden, welches zwar den Harnstoff völlig zerlegt, doch so wenig eingreifend wie möglich ist, damit dem Harnstoff noch beigemengte stickstoffhaltige Stoffe der Zersetzung entgehen.

Die folgenden beiden Verfahren (§ 479 u. § 480) geben die zuverlässigsten Werthe. Nach noch nicht veröffentlichten Versuchen von P. Spiess liefert das erstere stets etwas kleinere (0,08—0,19 pCt.) Werthe, als das letztere. Das § 481 beschriebene Verfahren ist zwar schneller auszuführen, aber nicht so genau wie die beiden andern.

Verfahren nach Pflüger-Bleibtreu.

479. Verfahren nach Pflüger-Bleibtreu[1]) mit Modificationen von Gumlich[2]) und Schöndorff[3]).

Princip. Ausfällung des grössten Theils der übrigen stickstoffhaltigen Bestandtheile durch Phosphorwolframsäure, Spaltung des im Filtrat befindlichen Harnstoffs durch $4\frac{1}{2}$stündiges Erhitzen des Filtrats mit Phosphorsäure auf 150° und Bestimmung des abgespaltenen Ammoniaks.

Erforderliche Reagentien und Apparate. 1. Eine Mischung von 9 Theilen 10 proc. Phosphorwolframsäure und 1 Th. Salzsäure (spec. Gewicht 1,124). Diese Mischung darf in Harnstofflösungen keine Trübung hervorrufen. 2. Kalkhydratpulver hergestellt durch Vermischen von Calciumoxyd mit Wasser, Trocknen und Pulverisiren. 3. Krystallisirte Phosphorsäure. 4. Die § 453 unter 2, 4, 5, 8 und 9 aufgeführten Apparate und Reagentien.

Ausführung. 50 ccm Harn (bei einem spec. Gewicht über 1017 nach Verdünnung mit gemessener Menge Wasser) werden in einem verschliessbaren Maasscylinder von 200 ccm mit genau derjenigen Menge obiger Phosphorwolframsäure versetzt als zur völligen Ausfällung nach Maassgabe einer Vorprobe sich gerade nöthig erwiesen hatte.

Die Ausführung dieser Vorprobe geschieht so, dass zu 10 ccm Harn allmählich unter Umschütteln so lange aus einer Bürette Phosphorwolframsäure zugegeben wird, bis

---

1) Arch. f. d. ges. Physiol. **44**. 78. (1889.)

2) Zeitschr. f. physiol. Chem. **17**. 10. (1893.)

3) Arch. f. d. ges. Physiol. **62**. 1. (1896.)

1 ccm des klaren (event. mehrfach zurückgegossenen) Filtrats auf Zusatz weniger Tropfen aus der Bürette sich nach 2 Minuten nicht trübt. Es genügt die Austitrirung bis auf 1 ccm.

Man füllt auf 150 bezw. 200 ccm mit zehnfach verdünnter Salzsäure (spec. Gewicht 1,124) auf, schüttelt um und filtrirt nach 24stündigem Stehen. Dabei ist auf völlige Klarheit des Filtrats zu achten (doppeltes Filter am besten aus dichtem schwedischen Filtrirpapier J. H. Munktell No. 1 hergestellt, wiederholtes Zurückgiessen). Das klare Filtrat wird mit Kalkhydratpulver bis zur alkalischen Reaction verrieben und nach Verschwinden der blauen Farbe filtrirt. Man misst nun 15 bezw. 20 ccm (entsprechend 5 ccm Harn) in ein Erlenmeyer'sches Kölbchen, in das vorher ungefähr 10 g krystallisirte Phosphorsäure eingebracht sind, ab und erhitzt in einem Trockenschrank $4^1/_2$ Stunden (gerechnet von der Zeit an, wenn alles Wasser verdunstet ist) auf 150°. Nach dem Erkalten löst man die am Boden befindliche syrupartige Masse in warmem Wasser, führt sie in einen Destillationskolben über, bestimmt ihren Stickstoffgehalt wie bei der Kjeldahlbestimmung (§ 453) und erfährt durch Multiplication des Stickstoffwerthes mit 2,143 die in 5 ccm Harn enthaltene Harnstoffmenge.

Nach Pflüger und Bleibtreu soll man in einer andern 5 ccm Harn enthaltenden Probe des Filtrats der mit dem Kalkpulver verriebenen Flüssigkeit eine Ammoniakbestimmung nach Schlösing (§ 475) ausführen, den gefundenen Werth auf Stickstoff umrechnen und von dem Gesammtstickstoffwerth vor der Umrechnung auf Harnstoff abziehen. Nach Gumlich ist bei Benutzung eines Merck'schen Phosphorwolframsäurepräparates diese Bestimmung unnöthig, da in diesem Falle alles Ammoniak im Phosphorwolframsäureniederschlag sich befindet, sofern man für eine völlige Klarheit des Filtrates sorgt. Will man die Ammoniakbestimmung doch ausführen, und das ist bei Benutzung einer Phosphorwolframsäure, welche Ammoniak nicht oder nicht vollständig fällt, durchaus nöthig, so ist dafür zu sorgen, dass die Proben des alkalisch reagirenden Filtrates, welche einerseits zur Bestimmung des Ammoniaks, andererseits zum Erhitzen mit Phosphorsäure benutzt werden sollen, nicht ungleiche Mengen von Ammoniak verlieren. Man giesst am Besten das Filtrat in gut verschliessbare Büretten und lässt nun hintereinander abgemessene Proben in den Phosphorsäure enthaltenden Kolben, sowie in die Glasschale des Schlösing'schen Apparates, in die eine zur Herstellung schwach saurer Reaction nöthige Menge Schwefelsäure eingebracht ist, fliessen.

480. Verfahren nach Mörner-Sjöqvist[1]) mit der Modification von Braunstein[2]). Verfahren nach Mörner-Sjöqvist.

Princip. Trennung des Harnstoffs von den übrigen stickstoffhaltigen Bestandtheilen durch Versetzen des Harns mit einer barythaltigen Chlorbariumlösung und einem Aether-Alkoholgemisch, in dem sich im Wesentlichen nur der Harnstoff löst. Das Princip der weiteren Bestimmung ist dasselbe wie bei dem § 479 besprochenen Verfahren.

Erforderliche Reagentien und Apparate. 1. eine 5 pCt. Aetzbaryt enthaltende gesättigte Chlorbariumlösung. 2. Eine Mischung von 2 Th. 97proc. Alkohols und 1 Th. Aether. 3. Die in § 479 unter 3 und 4 aufgeführten Reagentien und Apparate.

---

[1]) Skand. Arch. f. Physiol. **2**. 438. (1891.)

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **31**. 381. (1901.)

Ausführung. 5 ccm (event. nach S. 427 Fussnote enteiweisster) Harn werden in einem Kolben mit 5 ccm obiger Barytmischung gemischt, dann mit 100 ccm des Alkohol-Aethers versetzt und in verschlossenem Gefäss bis zum nächsten Tage stehen gelassen. Jetzt filtrirt man ab, wäscht mit Alkohol-Aether gründlich aus und dampft das Filtrat bei einer Temperatur von etwa 55° (nicht über 60°), zuletzt unter Zufügen von etwas Wasser und Magnesia usta, ein, bis die Dämpfe keine alkalische Reaction mehr zeigen. Die 15—10 ccm betragende Flüssigkeit wird unter Nachspülen mit Wasser in einen Erlenmeyer'schen Kolben, in dem sich 10 g krystallisirte Phosphorsäure befinden, übergeführt und weiter wie im vorigen Paragraphen behandelt.

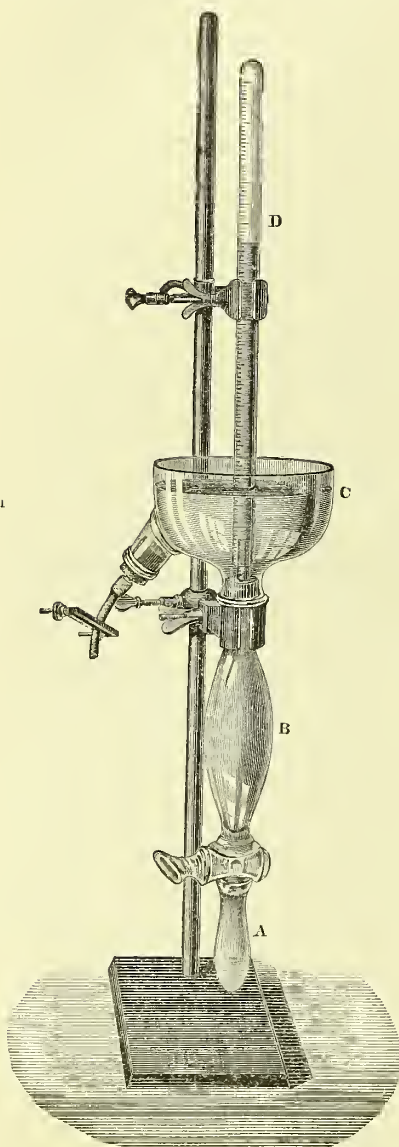


Fig. 11.

Verfahren nach Hüfner.

481. Verfahren nach Hüfner. Dieses zuerst von Davy und Leconte angegebene, dann von Knop[1]) u. Hüfner[2]) verbesserte Verfahren kann, da eine vorherige Isolirung des Harnstoffs nicht vorgenommen wird, nicht so genau sein, wie die vorstehend beschriebenen; dazu kommen noch andere Fehlerquellen. Trotzdem verdient es seiner bequemen Ausführbarkeit wegen erwähnt zu werden.

Princip. Zersetzung des Harnstoffs durch Bromlauge und gasometrische Bestimmung des entwickelten Stickstoffs.

Erforderliche Reagentien und Apparate. 1. Frisch bereitete Bromlauge, hergestellt durch Auflösen von 100 g Aetznatron in 250 ccm Wasser und Zufügen von 25 ccm Brom zu der völlig erkalteten Flüssigkeit. 50 ccm dieser Lösung reichen hin, um aus einer Salmiaklösung 130—150 ccm Stickstoff zu entwickeln. 2. Der in Fig. 11 dargestellte Apparat, dessen Gefäss *A* + zugehöriger (weiter) Hahnbohrung ungefähr 5 ccm fassen und genau kalibrirt sein muss. Das Gefäss *B* soll ungefähr 100 ccm fassen.

Ausführung. Man versetzt den Harn, wenn er nicht schon an und für sich sehr verdünnt ist, mit dem gleichen, event. mit dem doppelten

[1]) Zeitschr. f. analyt. Chem. **9**. 225. (1870.)

[2]) Journ. f. pract. Chem. N. F. **3**. 1. (1871.) Zeitschr. f. physiol. Chem. **1**. 350. (1878.)

Vol. Wasser (er soll ungefähr 1 pCt. Harnstoff enthalten), bringt ihn mittelst eines langen Trichterrohrs in das vollkommen trockene Gefäss *A*, füllt auch die Bohrung, schliesst den Hahn und spült nun das Gefäss *B* sorgfältig mit Wasser aus, um den Harn völlig zu entfernen. Jetzt füllt man das ganze Gefäss *B* und ebenso das Gefäss *C* grösstentheils mit der Bromlauge, stülpt das gleichfalls mit dieser Lauge gefüllte graduirte und calibrirte Glasrohr *D* über die Oeffnung des Gefässes *B* und beginnt nun die Bestimmung, indem man durch Oeffnung des Hahns die Lauge zu dem Harne in *A* eintreten lässt. Die Bohrung des Hahns soll eine recht weite sein, damit die Lauge recht plötzlich sich mit dem Harn mengt. Es zeigt sich alsbald stürmische Gasentwickelung, die sich bald verlangsamt, aber schwächer einige Zeit fortdauert. Ist die Gasentwickelung zu Ende, nach 20—30 Minuten, so wird das Rohr *D* etwas in die Höhe gezogen, mit Hülfe eines Glaslöffels in ein mit destillirtem Wasser gefülltes Cylinderglas gebracht und hier senkrecht so aufgestellt, dass das innere Niveau mit dem äusseren zusammenfällt. Nach halbstündigem Stehen bei gleichmässiger Temperatur liest man das Volumen des Gases ab, bestimmt die Temperatur der Luft über dem Wasser, notirt den Barometerstand und berechnet den Harnstoffgehalt des Harns nach folgenden Daten.

Berechnung. 1 g Harnstoff liefert nach seiner Formel 372 ccm Stickstoff von 0° und 760 mm Druck, aber nach Hüfner's Untersuchungen entwickelt die obige Brom-Natronlauge aus 1 g Harnstoff nur 354,33 ccm N_2 von 0° und 760 mm Druck. Ist nun p das Gewicht des Harnstoffs für 100 ccm Harn, a die für die Bestimmung verwendete Quantität Harn, b der beobachtete Barometerstand, t die Temperatur bei der Ablesung des Volumens v des entwickelten Stickstoffs in Cubikcentimetern und b' die Tension des Wasserdampfes für diese Temperatur, so ist

$$p = \frac{100\,v\,(b - b')}{760\,.\,354{,}33\,.\,a\,(1 + 0{,}003665\,.\,t)}.$$

Je concentrirter die Bromlauge und je höher die Temperatur, desto schneller und vollständiger vollzieht sich die Zerlegung des Harnstoffs unter Stickstoffentwickelung, desto grösser ist aber zugleich die Gefahr, dass neben Stickstoff auch Sauerstoff entwickelt wird. Harnsäure, Kreatinin, Ammoniak und mehrere andere Stoffe werden durch die Bromlauge unter allmählicher Entwickelung von Stickstoff zersetzt. Gute Resultate soll man erhalten, wenn man nach dem Vorschlage von Pflüger und Bohland[1]) zunächst aus dem Harne mittelst Phosphorwolframsäure und Salzsäure die Extractivstoffe entfernt und das Filtrat für die Hüfner'sche Methode verwendet.

Nachweis von Oxalursäure und Allantoïn im Harne.

Ueber den Nachweis von Oxalursäure siehe § 112, über den Nachweis von Allantoïn § 113.

---

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. **39**. 143. (1886.)

Nachweis und Bestimmung des Kreatinins im Harne.

482. Zum Nachweis des Kreatinins im Harne dienen die § 117 angegebenen Reactionen von Weyl oder Jaffé.

Für die quantitative Bestimmung hat Neubauer[1]) eine Methode empfohlen, welche auf der Isolirung des Kreatinins als Kreatininchlorzink beruht und nach Salkowski[2]) folgendermaassen ausgeführt wird:

Bestimmung nach Neubauer-Salkowski.

480 ccm eiweissfreien (S. 427 Anm.) Harns werden durch vorsichtigen Zusatz von Kalkmilch schwach alkalisch gemacht, mit Chlorcalcium genau ausgefällt, auf 600 ccm aufgefüllt, gut gemischt und nach 15 Min. durch ein trocknes Filter filtrirt. Vom Filtrat misst man 500 ccm im Maasskolben ab, macht mit Salzsäure schwach sauer, dampft anfangs auf freiem Feuer, dann auf dem Wasserbade bis auf etwa 40 ccm ein, neutralisirt mit Soda und rührt mit ungefähr dem gleichen Vol. abs. Alkohols durch. Die trübe Masse wird in einen etwas abs. Alkohol enthaltenden Maasskolben von 200 ccm gebracht, mit Alkohol nachgespült und auf 200 ccm aufgefüllt. Man schüttelt tüchtig durch, lässt stehen und stösst während des Erkaltens den Kolben öfters gelinde auf, um die in dem Niederschlag enthaltene Luft herauszubringen. Nach völligem Erkalten ergänzt man das Volumen wieder auf 200 ccm, filtrirt am nächsten Tage durch ein trocknes Filter, setzt zu 160 ccm Filtrat 1—2 ccm einer alkoholischen, absolut säurefreien Lösung von Chlorzink (spec. Gew. 1,2) hinzu und lässt nach anhaltendem Umrühren 3 bis 4 Tage mit einer Glasplatte bedeckt an einem kühlen Orte stehen. Nach dieser Zeit werden die abgeschiedenen Krystalle (mit Hülfe der zuerst filtrirten Flüssigkeit) auf ein vorher getrocknetes und gewogenes Filter gebracht und, nach völligem Ablaufen der Mutterlauge, so lange mit kleinen Mengen Weingeist gewaschen, bis dieser farblos abläuft und nicht mehr auf Chlor reagirt. Das Filter mit dem Kreatininchlorzink wird dann bei 100° getrocknet und gewogen. Da 100 g Kreatininchlorzink 62,42 g Kreatinin enthalten, giebt unter Berücksichtigung der Mengenverhältnisse der gefundene Werth mit 0,195 multiplicirt den Procentgehalt des Harns an Kreatinin. Statt der Wägung kann man den Stickstoff nach Kjeldahl (§ 253, b) bestimmen und aus dem gefundenen Stickstoffwerth das Kreatinin berechnen; in diesem Fall verwendet man zweckmässig nur die halbe Menge Harn.

Nachweis und Bestimmung der Harnsäure im Harne.

483. Der Nachweis der Harnsäure geschieht nach § 123.

Für die quantitative Bestimmung dienen die § 484 bis § 486 beschriebenen Methoden.

Eiweisshaltige Harne sind vor der Bestimmung in der S. 427 Anm. angegebenen Weise von Eiweiss zu befreien.

Sedimente oder Trübungen von harnsauren Salzen bringt man zunächst durch Erwärmen event. unter Zusatz von etwas Alkali in Lösung; ausgeschiedene freie Harnsäure filtrirt man ab und wägt sie für sich.

---

[1]) Ann. Chem. Pharm. **119**. 27. (1861.)

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **10**. 119. (1886.)

484. Verfahren nach Salkowski[1])-Ludwig[2]). Verfahren nach Salkowski-Ludwig.

Princip. Die Harnsäure wird durch ammoniakalische Silberlösung bei Gegenwart von Magnesiumsalzen als harnsaure Silber-Magnesia ausgefällt, durch Schwefelnatrium vom Silber befreit, und nach ihrer Abscheidung durch Salzsäure gewichtsanalytisch oder nach Kjeldahl bestimmt.

Erforderliche Lösungen: 1. Ammoniakalische Silberlösung. Man löst 26 g Silbernitrat in überschüssigem Ammoniak und füllt die Lösung mit destillirtem Wasser zu einem Liter auf.

2. Magnesiamischung. Man löst 100 g krystallisirtes Magnesiumchlorid und 200 g Ammoniumchlorid in Wasser, fügt Ammoniak bis zum starken Geruch hinzu und füllt mit destillirtem Wasser zu einem Liter auf.

3. Natriumsulfidlösung. Man stellt eine 1proc. reine Natronlauge her, sättigt die eine Hälfte mit Schwefelwasserstoff und vereinigt sie mit der andern.

Ausführung. Zu 200 ccm Harn, dessen spec. Gewicht nicht höher als 1020 sein darf, fügt man unter Umrühren eine Mischung von 20 ccm der Silberlösung und 20 ccm Magnesiamischung, welche man vorher mit soviel Ammoniak versetzt hat, dass das ausfallende Chlorsilber sich wieder löst. Nach $^1/_2$ bis 1 Stunde bringt man den Niederschlag auf ein Filter aus gut filtrirendem Papier und wäscht ihn mit schwach ammoniakalischem Wasser aus, indem man gleichzeitig das Waschwasser benutzt, die im Becherglase noch befindlichen Reste des Niederschlags vollständig auf das Filter zu bringen. Das Auswaschen ist beendet, wenn das letzte Wasehwasser beim Ansäuern mit Salpetersäure keine Spur einer Trübung giebt und auch die auf nachträglichen Zusatz von Silberlösung entstehende Trübung nur ganz gering ist. Jetzt spritzt man den Filterrückstand in einen Kolben, fügt 20 ccm Natriumsulfidlösung hinzu, schüttelt anhaltend, erhitzt bis zum beginnenden Sieden, filtrirt schnell durch ein Faltenfilter vom Schwefelsilber ab (das Filtrat muss ganz klar und farblos sein, eventuell wieder auf das Filter gegossen werden*) und wäscht einige Male mit heissem Wasser nach. Man dampft das Filtrat auf dem Wasserbade in einer Porzellanschale bis auf wenige Cubikcentimeter ein, fügt Salzsäure hinzu, lässt bis zum nächsten Tage stehen und sammelt den ausgeschiedenen Niederschlag auf einem bei 110° getrockneten und gewogenen Filter, indem man das zuletzt ablaufende Filtrat zum vollständigen Aufbringen des Niederschlags auf das Filter benutzt. Erst wenn die Flüssigkeit vom Filter vollständig abgelaufen ist, wäscht man einige Male mit möglichst wenig (Filtrat + Waschwasser soll womöglich nicht mehr wie 50—60 ccm betragen) destillirtem Wasser so lange nach, bis keine Trübung mehr durch Salpetersäure + Silbernitrat entsteht, dann mit Alkohol, mehrfach mit Schwefel-

*) Erhält man kein klares Filtrat, so kann man mit Essigsäure schwach ansäuern und nochmals zum Kochen erhitzen.

1) Salkowski u. Leube, Die Lehre vom Harn. 1882. S. 96.

2) Wien. med. Jahrbücher. 1884. S. 597.

kohlenstoff und Aether, trocknet und wägt. Filtrat und Waschwasser werden gesammelt und gemessen; für je 10 ccm addirt man 0,00048 g Harnsäure hinzu. Statt die abfiltrirte Harnsäure zu trocknen und zu wägen, kann man auch nach Kjeldahl (453, b) die Stickstoffmenge bestimmen. Der erhaltene Werth mit 3 multiplicirt giebt die Harnsäuremenge.

Verfahren nach Hopkins-Wörner.

485. Verfahren nach Hopkins-Wörner. Hopkins[1]) fand, dass sich beim Sättigen des Harns mit Salmiak die Harnsäure als harnsaures Ammoniak quantitativ abscheidet. Er gründete darauf eine Methode, indem er das abgeschiedene Ammonurat abfiltrirte, mit gesättigter Salmiaklösung auswusch, durch Erhitzen mit Wasser und Salzsäure in freie Harnsäure überführte und diese, nachdem sie sich abgeschieden, entweder durch Wägung oder durch Titration mit Schwefelsäure und $^{n}/_{20}$ Kaliumpermanganatlösung (1 ccm = 3,75 mg Harnsäure) bestimmte. Die erhaltenen Werthe stimmen mit den nach der vorigen Methode gefundenen überein.

Von Folin[2]) und anderen sind Modificationen dieses Verfahrens angegeben worden. Eine bequem auszuführende ist die folgende von Wörner[3]), bei der die Abscheidung der freien Harnsäure vermieden wird.

Ausführung. 150 ccm filtrirter Harn, dessen Aciditätsgrenze 3 ccm Normalsäure für 150 ccm nicht überschreiten darf*), werden in einem Becherglase auf 40—45° erwärmt und darin 30 g Salmiak aufgelöst. Nach $^1/_2$ bis 1 Stunde ist alle Harnsäure als Ammonsalz ausgefällt und der grösste Theil des letzteren hat sich zu Boden gesenkt. Man giesst die über dem Niederschlage stehende, trübe Flüssigkeit in ein anderes Becherglas ab, bringt den Niederschlag aufs Filter und filtrirt dann erst die Mutterlauge durch das so dicht gemachte Filter. Man erhält so in allen Fällen ein klares Filtrat, während sonst der Niederschlag leicht durchs Filter geht. Beide Bechergläser werden mit Mutterlauge wiederholt nachgewaschen, bis alles Urat aufs Filter gebracht ist. Ist das erreicht und der Harn vollständig abgelaufen, so wird der Niederschlag mit 10 proc. Ammonsulfatlösung gründlich ausgewaschen (bis er chlorfrei ist) und dann auf dem Filter in 1 bis 2 proc. heisser Natronlauge gelöst und das Filter mehrmals mit heissem Wasser nachgewaschen. Filtrat und Waschwasser werden in einer Schale auf dem Wasserbade solange erhitzt, bis kein Ammoniak mehr weggeht, dann in einen Kjeldahlkolben gespült und

---

*) Ist das der Fall, so muss er neutralisirt werden. Lewandowsky, Zeitschr. f. klin. Med. **40**. 199. (1900.)

[1]) Proc. of the Lond. roy. Soc. **52**. 93. (1892.)
Ref. Chem. Centralbl. 1892. **2**. S. 269.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **24**. 224. (1898.)
Folin u. Shaffer, Ebendas. **32**. 552. (1901.)

[3]) Ebendas. **29**. 70. (1900.)

dem Kjedahlverfahren nach § 453, b unterworfen. 1 ccm $^{n}/_{10}$ Schwefelsäure entspricht 0,0042 g Harnsäure.

Bestimmung der Harnsäure und Purinbasen im Harne nach M. Krüger u. J. Schmid.*)

486. Princip. Harnsäure und Purinbasen werden als Kupferoxydulverbindungen gemeinsam ausgefällt und diese durch Schwefelnatrium zerlegt. Aus der wässrigen Lösung fällt Salzsäure die Harnsäure, aus dem Filtrat werden die Purinbasen wieder als Kupferoxydul- oder Silberverbindungen abgeschieden. Schliesslich wird der Stickstoff sowohl der Harnsäure, als des Purinbasengemenges nach Kjeldahl ermittelt.

Erforderliche Lösungen. 1. Käufliche Natriumbisulfitlösung (Kahlbaum).
2. 10 proc. Kupfersulfatlösung. 3. Natriumsulfidlösung (§ 484).
4. Aufschwemmung von Braunstein in Wasser. Eine heisse 0,5 proc. Lösung von Kaliumpermanganat wird mit Alkohol bis zur Entfärbung versetzt.
5. 10 proc. Salzsäure. 6. 10 proc. Essigsäure.
Ausserdem für die Bestimmung der Purinbasen mit der Silberfällung:
7. Ammoniakalische Silberlösung (§ 484).
8. Magnesiamischung (§ 484). 9. 6 proc. Dinatriumphosphatlösung.

Ausführung. 400 ccm (event. nach S. 427 Anm. enteiweisster) Harn**) (der 4. oder 5. Theil der auf 1600 oder 2000 ccm gebrachten Tagesmenge) werden in einem Literrundkolben mit 24 g Natriumacetat und 40 ccm Natriumbisulfitlösung versetzt, zum Kochen erhitzt und nach Zusatz von 40—80 ccm Kupfersulfatllösung (je nachdem der Harn wenig oder viel Purinkörper enthält) mindestens 3 Minuten im Sieden erhalten. Der entstandene flockige Niederschlag wird sofort oder nach dem Abkühlen der Flüssigkeit durch ein Faltenfilter filtrirt, mit heissem Wasser solange gewaschen, bis das Filtrat farblos abläuft und schliesslich mit heissem Wasser in den Kolben, in dem die Fällung vorgenommen worden war, zurückgespritzt. Man fügt soviel Wasser hinzu, dass die Flüssigkeitsmenge etwa 200 ccm beträgt, erhitzt zum Sieden und zersetzt den Kupferoxydulniederschlag durch Hinzufügen von 30 ccm Natriumsulfidlösung. In den meisten Fällen wird diese Menge genügen, doch hat man sich jedesmal von der Vollständigkeit der Fällung zu überzeugen, indem man einen Tropfen der Flüssigkeit auf ein mit einem Tropfen Bleiacetatlösung befeuchtetes Stück Filtrirpapier bringt. Braunfärbung zeigt Ueberschuss an Natriumsulfid an. Nach völliger Zersetzung säuert man mit Essigsäure an, erhält noch so lange im Sieden, bis der ausgeschiedene Schwefel sich zusammengeballt hat, filtrirt siedend heiss mit Hülfe der Saugvorrichtung und unter Benutzung einer Porzellanfilter-

*) Diese noch nicht veröffentlichte Methode verdanke ich Herrn M. Krüger. In Betreff ihrer Begründung sei auf die demnächst erscheinende Originalarbeit verwiesen.
**) Nimmt man eine andere Menge Harn, so sind auch die Mengen der Zusätze entsprechend zu verändern.

platte, wäscht mit heissem Wasser aus, fügt 10 ccm 10 proc. Salzsäure hinzu und dampft das Filtrat in einer 300 ccm fassenden Porzellanschale bis auf etwa 10 ccm ein. Während des Einengens und darauffolgenden zweistündigen Stehens scheidet sich die Harnsäure ab, während die Purinbasen in Lösung bleiben. Die weitere Bearbeitung der Abscheidung geschieht nach 1, die der Lösung nach 2.

1. Die abgeschiedene Harnsäure wird durch ein kleines Filter abfiltrirt, mit schwefelsäurehaltigem Wasser ausgewaschen, bis Filtrat und Waschflüssigkeit zusammen 75 ccm betragen und sammt dem Filter nach Kjeldahl (§ 453, b) behandelt. Zu der aus dem gefundenen Stickstoffwerth durch Multiplication mit 3 berechneten Harnsäure sind noch 3,5 mg (für die in 75 ccm Filtrat gelöste Harnsäure) hinzuzuaddiren.

2. Im Filtrate von der Harnsäure können die Purinbasen sowohl durch Kupferfällung (nach a) als auch durch Silberfällung (nach b) bestimmt werden. Beide Verfahren geben übereinstimmende Werthe.

a) Mit Hülfe der Kupferfällung. Die Flüssigkeit wird mit Natronlauge alkalisch, darauf mit Essigsäure schwach sauer gemacht, nach Erwärmen auf 70° oder einige Grade darüber mit $^1/_2$—1 ccm 10 proc. Essigsäure und 10 ccm der Braunsteinaufschwemmung (zur Oxydation der geringen Mengen noch vorhandener Harnsäure) versetzt und 1 Minute geschüttelt. Man fügt jetzt 10 ccm der Natriumbisulfitlösung, welche gleichzeitig den überschüssigen Braunstein löst, und 5—10 ccm der 10 proc. Kupfersulfatlösung hinzu, erhält die Flüssigkeit 3 Minuten im Sieden, filtrirt den Niederschlag sofort durch ein Faltenfilter (am Besten aus schwedischem Papier J. H. Munktell No. 1), wäscht mit heissem Wasser aus und bestimmt den Stickstoff nach Kjeldahl (§ 253, b). Eine Umrechnung des gefundenen Stickstoffs auf die Basen selbst erscheint unzweckmässig, da man dabei eine willkürlich angenommene Zusammensetzung des Basengemisches zu Grunde legen muss.

b) Mit Hülfe der Silberfällung. Zunächst ist das Verfahren dasselbe wie bei a. Die essigsaure Lösung, welche den überschüssigen Braunstein suspendirt enthält, wird mit Ammoniak alkalisch gemacht, abgekühlt und mit 10 ccm der ammoniakalischen Silberlösung und Ammoniak bis zur Lösung des Chlorsilbers versetzt. Um das Absitzen zu begünstigen und die Filtration und das Auswaschen des voluminösen Silberniederschlags der Purinbasen zu erleichtern, erzeugt man gleichzeitig in der Flüssigkeit einen Niederschlag von phosphorsaurer Ammoniakmagnesia, indem man 10 ccm der Dinatriumphosphatlösung und 5 ccm der Magnesiamischung hinzufügt. Nach zweistündigem Stehen filtrirt man den Niederschlag durch ein Faltenfilter ab, wäscht ihn mit destillirtem Wasser möglichst ammoniakfrei, spritzt ihn mit heissem Wasser in einen Rundkolben und vertreibt das Ammoniak durch Kochen unter Zusatz von Magnesia usta. Nunmehr erfolgt die Bestimmung des Stickstoffs nach Kjeldahl (§ 253, b).

Nachweis und Bestimmung der Sulfocyansäure im Harne nach J. Munk[1]).

487. Zum Nachweis fällt man etwa 200 ccm mit Salpetersäure angesäuerten Harns mit Silbernitrat, zertheilt den abfiltrirten Niederschlag in Wasser, zersetzt ihn mit Schwefelwasserstoff, destillirt die filtrirte Flüssigkeit und prüft das Destillat nach § 54, b auf Blausäure mit Hülfe der Berlinerblauprobe. Die Blausäure ist bei der Destillation aus Sulfocyansäure entstanden.

Zur quantitativen Bestimmung geht man von 100 ccm Harn aus und verfährt zunächst in derselben Weise. Der abfiltrirte und ausgewaschene Silberniederschlag wird mit Soda und Salpeter geschmolzen und die dabei aus dem Schwefel der Sulfocyansäure gebildete Schwefelsäure als Bariumsulfat nach § 445 bestimmt. 1 Th. Bariumsulfat entspricht 0,253 g Sulfocyansäure.

Nachweis und Bestimmung der Fettsäuren im Harne.

488. Zur Isolirung der flüchtigen Fettsäuren wird eine grössere Menge Harn mit Phosphorsäure versetzt und unter öfterem Zufügen von Wasser (das Volumen soll niemals weniger als 400 ccm betragen, um das Uebergehen von Salzsäure zu verhindern) solange destillirt, als das Destillat noch sauer reagirt. Das Destillat wird mit Barytwasser alkalisch gemacht und nach Entfernung des überschüssigen Baryts durch Kohlensäure eingedampft. Der Rückstand wird mit wenig Wasser aufgenommen, die Lösung in eine gewogene Platinschale filtrirt, mit wenig Wasser nachgewaschen, eingedampft, getrocknet und gewogen: Barytsalze der Fettsäuren. Vergl. auch § 71.

Ueber die Methode zur Isolirung nicht flüchtiger höherer Fettsäuren siehe bei Hybbinette[2]).

Nachweis und Bestimmung der Oxalsäure im Harne nach Autenrieth und Barth[3]).

489. Man versetzt die Tagesmenge Harn mit Chlorcalciumlösung im Ueberschuss, dann mit Ammoniak bis zur stark alkalischen Reaction, schüttelt gut durch und lässt 18—20 Stunden stehen. Die über dem Niederschlag stehende Flüssigkeit giesst man durch das Doppelfilter einer nicht zu kleinen Nutsche, bringt zuletzt den Niederschlag darauf und spült mit wenig kaltem Wasser nach. Bei Benutzung guten Filtrirpapiers lassen sich selbst 2 Liter Harnflüssigkeit in einer halben Stunde klar filtriren, auch wenn man, um ein klares Filtrat zu erhalten, wiederholt zurückgiessen muss. Der gut abgesaugte Niederschlag wird in einem Becherglase in möglichst wenig heisser Salzsäure gelöst (meist genügen 30 ccm einer etwa 15 proc. Salzsäure) und die Lösung in einer geräumigen Flasche 4 bis 5 Mal mit je 150 bis 200 ccm Aether, dem 3 pCt. abs. Alkohol zugefügt ist, tüchtig durchgeschüttelt. Die vereinigten Aetherauszüge lässt man 1 Stunde lang in einem Kolben ruhig stehen, wobei sich meist noch einige Tropfen wässeriger Flüssigkeit abscheiden, filtrirt durch ein trocknes Filter und destillirt sie nach Zufügen von etwa 5 ccm Wasser ab. Die rückständige wässrige Flüssigkeit wird, wenn nöthig, mit wenig Blutkohle geschüttelt, filtrirt,

---

1) Arch. f. pathol. Anat. **69**. 350. (1877.)
2) Skand. Arch. f. Physiol. **7**. 380. (1897.)
3) Zeitschr. f. physiol. Chem. **35**. 327. (1902.)

auf dem Wasserbade auf 3 bis 5 ccm eingeengt, mit Calciumchloridlösung, darauf mit Ammoniak bis zur stark alkalischen Reaction versetzt und nach einiger Zeit mit verdünnter Essigsäure ganz schwach angesäuert. Am nächsten Tage filtrirt man durch ein aschefreies Filter und verfährt weiter nach § 434, a 1. Das Gewicht des gefundenen Calciumoxyds multiplicirt mit 1,6075 giebt die Oxalsäure.

Nachweis und Bestimmung von Phenol-, Kresol-, Brenzcatechin-, Indoxylschwefelsäure im Harne.

Aetherschwefelsäure. Ueber Nachweis und Bestimmung der in diesen Verbindungen enthaltenen Schwefelsäure siehe § 463 u. § 470.

490. **Phenol und Kresol.** In Betreff des Nachweises siehe § 189. Zur quantitativen Bestimmung dient das folgende Verfahren.

Verfahren nach Kossler und Penny.

Verfahren nach Kossler und Penny[1]) in der Modification von Neuberg[2]).

Princip. Die Methode ist eine jodometrische und beruht darauf, dass unter bestimmten Bedingungen durch Hypojodit das Phenol in Trijodphenol und das Kresol in Trijodkresol übergeführt wird.

Erforderliche Lösungen: 1. $^n/_{10}$ Natronlauge (§ 17).
2. $^n/_{10}$ Jodlösung und $^n/_{10}$ Thiosulfatlösung (§ 20).

Ausführung. 500 ccm Harn werden bei schwach alkalischer Reaction auf etwa 100 ccm eingedampft (dabei entweicht das vorhandene Aceton), der conc. Harn in einen Destillationskolben übergeführt, mit soviel Schwefelsäure versetzt, dass die Flüssigkeit ungefähr 5 pCt. der ursprünglichen Harnmenge davon enthält und destillirt. Wenn der Kolbeninhalt soweit abdestillirt ist, dass die Flüssigkeit heftig zu stossen beginnt, verdünnt man mit Wasser, destillirt weiter und wiederholt dies mindestens 5—6 Mal*). Das Destillat wird zur Bindung von Ameisensäure und salpetriger Säure mit Calciumcarbonat ordentlich durchgeschüttelt, abermals destillirt und die Destillation nach Zufügen von Wasser zum Rückstande mehrmals wiederholt. Um die bei der Destillation aus den Kohlehydraten des Harns entstehenden Jod bindenden Körper abzutrennen, werden die Destillate in einem grossen Kolben vereinigt, mit einer Auflösung von 1 g Aetznatron und 6 g Bleizucker versetzt und etwa 15 Min. auf lebhaft siedendem Wasserbade und dann am absteigenden Kühler auf freiem Feuer erhitzt, bis wenige Cubik-

---

*) Mit Hülfe qualitativer Reactionen kann man ihrer zu geringen Empfindlichkeit wegen nicht entscheiden, ob alles Phenol übergegangen ist. Es bleibt nichts anderes übrig, als nach 5—6 maligem Destilliren nochmals zu destilliren und dieses Destillat getrennt von der Hauptmenge, aber ebenso wie diese, weiter zu behandeln. Vermag es bei der Titration noch nennenswerthe Mengen Jod zu binden, so ist die Destillation fortzusetzen.

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **17.** 117. (1893.)

[2]) Ebendas. **27.** 123. (1899.)

centimeter des Destillats ammoniakalische Silberlösung nicht mehr reduciren, was gewöhnlich nach etwa 5 Min. der Fall ist. Längeres Erhitzen ist zu vermeiden. Die Phenole bleiben als basische Bleiphenolate zurück, während die andern jodbindenden Stoffe entweichen (Neuberg). Man säuert nun den Kolbeninhalt stark mit verdünnter Schwefelsäure an und destillirt die Phenole unter zweimaliger Ergänzung des Wassers ab. Ein aliquoter Theil des gemessenen Destillates wird in einer gut schliessenden Stöpselflasche aus einer Bürette mit nitritfreier $^{n}/_{10}$ Natronlauge bis zur stark alkalischen Reaction versetzt, durch Eintauchen in heisses Wasser erwärmt, nun $^{n}/_{10}$ Jodlösung u. z. 15—25 ccm mehr, als man $^{n}/_{10}$ Natronlauge genommen, zugefügt, verschlossen und geschüttelt*). Nach dem Erkalten wird angesäuert und das frei gewordene Jod unter Benutzung von Stärkekleister als Indicator mit $^{n}/_{10}$ Natriumthiosulfatlösung bis zum Farbenumschlag von Violett in Roth zurücktitrirt (§ 20).

1 ccm $^{n}/_{10}$ Jodlösung entspricht 1,567 mg Phenol oder 1,8018 mg Kresol.

491. **Brenzcatechin** wird nach § 190 isolirt und nachgewiesen, zur quantitativen Bestimmung nach demselben Paragraphen in Substanz dargestellt, getrocknet und gewogen.

492. **Indoxyl.** Der Nachweis der Indoxylschwefelsäure (incl. etwa vorhandener Indoxylglycuronsäure) beruht auf der Spaltung derselben und Ueberführung des Indoxyls in Indigo. Der ursprünglich von Jaffé[1]) als Oxydationsmittel empfohlene Chlorkalk hat den Nachtheil, dass die Menge, welche erforderlich ist, um sämmtliches Indoxyl in Indigo zu verwandeln, nur durch Ausprobiren gefunden werden kann. Setzt man zu wenig zu, ist die Bildung des Indigos unvollständig, nimmt man zu viel, so wird Indigo oxydirt. Es ist deswegen rathsam, an Stelle des Chlorkalks das von Obermayer[2]) empfohlene Eisenchlorid zu verwenden, welches auch im Ueberschuss zugesetzt keine Oxydation des gebildeten Indigos bewirkt, und in folgender Weise zu verfahren: Der Harn wird mit Bleizuckerlösung (1 : 5) womöglich unter Vermeidung eines Ueberschusses ausgefällt. Das Filtrat versetzt man mit dem gleichen Volumen rauchender Salzsäure, welche in 500 Thl. 1—2 Thl. Eisenchlorid enthält, und schüttelt tüchtig 1 oder 2 Minuten durch. Der gebildete Indigo wird nun mit Chloroform aufgenommen. Dasselbe setzt sich rasch vollkommen klar und rein blau ab. Zuweilen beobachtet man durch einen andern Farbstoff bedingte Violettfärbung.

Nachweis nach Obermayer.

*) Die Menge der zuzusetzenden Natronlauge und Jodlösung richtet sich nach der Menge der Phenole, jedenfalls muss die Flüssigkeit nach Zusatz des Jods stark braun gefärbt sein; es empfiehlt sich zunächst nur einen Theil des Destillates zur Titration zu nehmen, um die Titration wiederholen zu können.

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. 3. 448. (1870.)

[2]) Wien. klin. Wochenschr. 1890. S. 176.

Annähernde quantitative Bestimmungen des Indigos.

Zu einer annähernd quantitativen Bestimmung des Indigos behandelt man so oft mit neuen Portionen Chloroform, bis dasselbe sich nicht mehr färbt, verdunstet die vereinigten Chloroformlösungen in einem gewogenen Becherglase, behandelt den Rückstand zur Entfernung von Benzoësäure und anderen in Chloroform löslichen Substanzen mit einer Mischung von Wasser, Alkohol und Aether, trocknet bei 105—110° und wägt.

Auch auf colorimetrischem Wege lässt sich eine annähernd quantitative Bestimmung ausführen, vergl. das von Strauss[1]) beschriebene Verfahren.

Ein auf die Obermayer'sche Methode sich gründende titrimetrische Bestimmung (mit Hülfe von Kaliumpermanganat) ist von Obermayer[2]) und gleichzeitig von Wang[3]) angegeben worden. Trotz verschiedener Bemühungen (Wang[4]), Bouma[5]) hat diese Methode in ihren Einzelheiten noch nicht genügend festgestellt werden können. Vergl. auch die von Bouma[6]) angegebene Bestimmung des Harnindicans als Indigoroth mittelst Isatinsalzsäure.

Nachweis und Bestimmung der Hippursäure (und Benzoësäure) im Harne.

493. Zum Nachweis der nach § 195 isolirten Hippursäure dienen die S. 225 angegebenen Reactionen.

Auch zur Bestimmung der Hippursäure dient allein die Darstellung derselben aus einer abgemessenen Quantität Harn.

Verfahren nach Bunge und Schmiedeberg.

1. Verfahren nach Bunge und Schmiedeberg[7]). Die nicht zu kleine Quantität Harn, vom menschlichen Harn mindestens 300 ccm, wird mit Sodalösung alkalisch gemacht, filtrirt und das Filtrat zum dicken Syrup eingedampft, der Rückstand wird wiederholt mit kaltem Alkohol ausgezogen und der alkoholische Auszug eingedampft, mit Salzsäure versetzt und wiederholt (wenigstens 5 Mal) mit Essigäther ausgeschüttelt. Die klar abgegossene Lösung der Hippursäure in Essigäther wird mit Wasser gewaschen und dann bei mässiger Temperatur verdunstet. Den Rückstand zieht man, um Benzoësäure und andere Verunreinigungen zu entfernen, mehrmals mit frisch destillirtem Petroläther aus und löst ihn in wenig warmem Wasser. Die wässrige Lösung wird mit etwas Thierkohle digerirt, filtrirt, das Filtrat bei höchstens 50—60° zur Krystallisation verdunstet und der Rückstand getrocknet und gewogen. Diese Methode giebt gute Resultate[8]) und ist auch zur Bestimmung der Benzoësäure geeignet, wenn man den Rück-

---

1) Deutsche med. Wochenschr. 1902. No. 16.
2) Wien. klin. Rundschau. 1898. No. 34.
Zeitschr. f. physiol. Chem. **26**. 427. (1899.)
3) Ebendas. **25**. 406. (1898.)
4) Ebendas. **27**. 135. (1899.) **28**. 576. (1899.)
5) Ebendas. **27**. 348. (1899.) **30**. 117. (1900.)
6) Ebendas. **32**. 82. (1901.) 7) Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **6**. 235. (1877.)
8) v. Schröder, Zeitschr. f. physiol. Chem. **3**. 323. (1879.)

stand des Petrolätherauszugs in Wasser warm löst, filtrirt, das Filtrat bei mässiger Temperatur verdunstet, den Rückstand trocknet und wägt.

Jaarsveld und Stokvis[1]) verfahren gleichfalls nach obiger Mehode, wandeln aber nachher die durch Petroläther gereinigte Hippursäure durch $^1/_4$ bis $^1/_2$ stündiges Kochen mit starker Natronlauge in Benzoësäure um, säuern dann mit Salzsäure an, schütteln mehrmals mit Petroläther, bestimmen die in demselben gelöste Benzoësäure und berechnen aus der getrockneten und gewogenen Benzoësäure die Hippursäure (Multiplication des erhaltenen Werthes mit 1,468).

2. Verfahren nach Völker[2]). 200 bis 300 ccm Harn werden in einem Hofmeister'schen Schälchen auf $^1/_3$ eingeengt, nach Zusatz von 4 g Natriumphosphat weiter zur Syrupsconsistenz eingedampft und nach Beimengung von gebranntem Gyps so lange erwärmt, bis sich die Masse zu Pulver zerdrücken lässt. Letzteres wird sammt der zerschlagenen Schale im Soxhlet'schen Extractionsapparat zuerst 4—6 Stunden mit Petroläther, dann nach Wechseln des Kolbens 6—10 Stunden mit trocknem Aether extrahirt. Der Aetherrückstand wird in Wasser gelöst, die Lösung mit Kohle entfärbt, auf 1—2 ccm bei 50—60° verdunstet und der Krystallisation überlassen. Die Krystalle sammelt man auf einem bei 110° getrockneten und gewogenen Filter, wäscht mit etwas Wasser und ein Paar Tropfen Aether, trocknet und wägt. Als Correctur kann für je 1 ccm Filtrat 0,0015 g Hippursäure in Rechnung gesetzt werden. Verfahren nach Völker.

Nachweis der p-Oxyphenylessigsäure und Hydro-p-cumarsäure im Harne.

494. Zum Nachweis erwärmt man etwa 20 ccm Harn nach Baumann[3]) mit Salzsäure auf dem Wasserbade und schüttelt mit Aether aus. Die ätherische Lösung wird mit einer schwachen Sodalösung geschüttelt und diese nach Ansäuern mit Schwefelsäure wieder mit Aether. Den beim Verdunsten des Aethers hinterbleibenden Rückstand löst man in Wasser und prüft die wässerige Lösung mit Millon's Reagens (Anh.). Bei Anwesenheit der Säuren tritt Rothfärbung ein (§ 201 u. § 202).

Nachweis des Inosits im Harne.

495. Dem Nachweis, zu dem die S. 222 angegebenen Reactionen dienen, muss die Isolirung vorangehen. Für diese versetzt man mehrere Liter Harn bei schwach saurer Reaction mit Bleizuckerlösung, so lange ein Niederschlag entsteht, filtrirt, fällt das Filtrat vorsichtig mit Bleiessig aus, fügt noch etwas Ammoniak hinzu, rührt um und lässt 2 Tage stehen. Der abfiltrirte und in Wasser zertheilte Niederschlag wird mit Schwefelwasserstoff zerlegt, das Filtrat zum Syrup eingedampft und mit viel absolutem Alkohol behandelt. Den abfiltrirten Niederschlag löst man in wenig Wasser und behandelt die Lösung mit Alkohol und Aether wie S. 221 angegeben worden ist.

---

1) Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **10**. 271. (1879.)
2) Maly's Jahresber. 1887. S. 215.
3) Zeitschr. f. physiol. Chem. **4**. 304. (1880.)

Nachweis und Bestimmung der Kynurensäure im Hundeharne.

496. Ueber Isolirung und Nachweis siehe § 219. Die quantitative Bestimmung geschieht nach Jaffé[1]) oder nach Capaldi[2]).

Verfahren nach Jaffé.

Verfahren nach Jaffé. Der Harn (100ccm) wird zum dicken Syrup eingedampft, mit heissem Alkohol behandelt und 24 Stunden stehen gelassen; in dieser Zeit scheidet sich die Flüssigkeit klar ab, man filtrirt und wäscht den Niederschlag mit Alkohol aus. Das Filtrat wird eingedampft, der zurückbleibende Syrup in Wasser gelöst, mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und mit Aether stark geschüttelt. Die Kynurensäure scheidet sich ziemlich rein aus.

Verfahren nach Capaldi.

Verfahren nach Capaldi. Der Harn (100 ccm) wird mit 50 pCt. einer 10proc. Chlorbariumlösung, die 5pCt. conc. Ammoniak enthält, vermischt, das Filtrat bis auf $^1/_3$ der benutzten Harnmenge eingedampft und mit 4 pCt. conc. Salzsäure versetzt. Der Niederschlag wird nach 16—24 Stunden abfiltrirt, mit 1proc. Salzsäure ausgewaschen, in ein Becherglas gespritzt und in Ammoniak gelöst. Die Lösung wird auf dem Wasserbade bis zum Verschwinden des freien Ammoniaks erwärmt, filtrirt und wieder mit 4 pCt. conc. Salzsäure versetzt. Der entstandene weisse Niederschlag wird nach etwa 6 Stunden durch ein gewogenes Filter filtrirt, mit 1proc. Salzsäure und zweimal mit Wasser gewaschen, bei 100° getrocknet und gewogen.

Vorwiegend pathologische Harnbestandtheile.

Nachweis und Bestimmung des Traubenzuckers im Harne.

Ueber den Nachweis siehe §§ 92 und 93.

Die quantitative Bestimmung kann durch Polarisation, durch Titration und mit Hülfe der Vergährung ausgeführt werden.

497. **Bestimmung durch Polarisation.** Diabetische Harne können in vielen Fällen nach der Filtration ohne weitere Vorbereitung polarisirt werden. Sind sie trübe und durch einfache Filtration nicht zu klären oder sind sie zu sehr gefärbt, so schüttelt man eine kleine Menge mit etwas fein gepulvertem Bleiacetat, filtrirt und verwendet das klare Filtrat. Als Polarimeter benutzt man am besten das § 34 abgebildete Saccharimeter von Schmidt-Haensch, bei dem sich der Procentgehalt an Traubenzucker gleich an der Skala ablesen lässt. Verwendet man einen nicht für die speciellen Zwecke der Zuckerbestimmung construirten Apparat, so geschieht die Berechnung der Traubenzuckermenge nach § 32 ($[\alpha]_D = 52,74$).

Die Bestimmung giebt nur dann richtige Werthe, wenn der Harn keine linksdrehenden Substanzen, Eiweiss, β-Oxybuttersäure, gepaarte Glycuronsäuren, Leo'schen Zucker, Laevulose enthält. Etwa vorhandenes Eiweiss ist in der S. 427 Anm. beschriebenen Weise vor der Polarisation zu entfernen. Um die Anwesenheit anderer linksdrehender Substanzen festzustellen, lässt man den Harn vergähren und wiederholt dann die Polarisation. Ergiebt sich hierbei eine Linksdrehung, so ist der gefundene Werth zu dem zuerst gefundenen hinzuzuaddiren.

---

1) Bei August Schmidt. Dissert. Königsberg. 1884.

2) Zeitschr. f. physiol. Chem **23**. 92. (1897.)

β-Oxybuttersäure, gepaarte Glycuronsäuren, Leo'scher Zucker vergähren nicht. Die äusserst selten vorkommende Laevulose vergährt allerdings auch, an sie wird aber erst zu denken sein, wenn die Polarisation im Verhältniss zur Titrirung zu geringe Werthe giebt und alle anderen linksdrehenden Stoffe auszuschliessen sind.

Ausführung bei sehr geringem Zuckergehalt. Man fällt eine grössere (gemessene) Menge Harn mit Bleizucker, filtrirt, fällt das Filtrat mit Bleiessig und etwas Ammoniak und zerlegt den in Alkohol zertheilten Niederschlag mit Schwefelwasserstoff. Das Filtrat wird, wenn nöthig, mit wenig Thierkohle entfärbt, bei mässiger Temperatur auf ein kleines (zu messendes) Volumen eingeengt und im Polarisationsapparat untersucht. Betrug das Volumen des benutzten Harns 1500 ccm, das Volumen der alkoholischen Lösung 21 ccm, die Länge des benutzten Rohres 2 dm und die am Saccharimeter von Schmidt-Haensch (§ 34) abgelesene Drehung 3 Theilstriche, so sind in 1500 ccm Harn $\frac{3 \cdot 21}{100} = 0{,}63$ g Traubenzucker. Polarimetrische Bestimmung bei sehr geringem Zuckergehalt.

Eine Complication kann bei dieser Untersuchung entstehen durch etwaige Anwesenheit von Gallensäuren oder Milchzucker im Harn, welche, wenn auch nur in kleiner Menge vorhanden, gleichfalls durch basisches Bleiacetat und Ammoniak gefällt werden und nach rechts drehen. Man schützt sich vor dieser Fehlerquelle, indem man die alkoholische Lösung nach der Polarisation durch Eindampfen vom Alkohol befreit, etwas Wasser und Hefe zufügt, nach 24stündigem Stehen an einem warmem Orte filtrirt, mit Alkohol nachwäscht, auf das ursprüngliche Volumen einengt und wieder polarisirt. Eine jetzt noch vorhandene Rechtsdrehung ist auf andere Stoffe, Gallensäuren, Milchzucker zu beziehen.

498. Bestimmung durch Titration mit Fehling'scher Lösung.

Princip. Die Methode beruht auf der Trommer'schen Probe (§ 92, 4).

Herstellung der Fehling'schen Lösung. Man löst 34,639 g reines krystallisirtes Kupfersulfat in Wasser auf und verdünnt die Lösung zu 500 ccm; man löst ferner 173 g krystallisirtes, völlig reines weinsaures Kali-Natron in wenig Wasser, fügt 100 ccm Natronlauge, welche 50 g Aetznatron enthält, hinzu und verdünnt gleichfalls zu 500 ccm. Zu jedesmaligem Gebrauch mischt man gleiche Volumina beider Lösungen. Die fertige Fehling'sche Lösung hält sich, auch beim Aufbewahren im Dunkeln, nicht lange; sie ist zu verwerfen, wenn eine kleine im Reagensglas gekochte Probe während etwa einstündigen Stehens einen Niederschlag von Kupferoxydul abscheidet.

20 ccm der Fehling'schen Lösung entsprechen 0,1 g Traubenzucker.

Ausführung. Man bringt 20 ccm der Fehling'schen Lösung, mit einer Pipette oder Bürette abgemessen, in eine Porzellanschale oder einen Kolben und fügt 80 ccm Wasser hinzu. Ferner lässt man von dem (event. nach S. 427, Anm. von Eiweiss befreiten) Harne, dessen Zuckergehalt bestimmt werden soll, 10 ccm in einen Maasskolben von 100 ccm fliessen, fügt Wasser bis zur Marke hinzu (ist der Harn nur in geringem Grade zuckerhaltig, so verdünnt man wenig oder gar nicht), mischt gut und füllt mit der Mischung eine Bürette. Man erhitzt nun durch eine kleine Flamme die verdünnte Kupferlösung zum beginnenden Kochen, giebt zunächst 2 ccm von dem verdünnten Harn hinzu, lässt ein paar Secunden kochen und beob-

achtet, ob die Flüssigkeit noch blau bleibt, fügt, wenn dies der Fall ist, 1 ccm des verdünnten Harns hinzu, kocht, fügt wieder 1 ccm Harn hinzu u. s. w., bis die Flüssigkeit über dem entstandenen rothen Niederschlage von Kupferoxydul farblos aber noch nicht gelb (Einwirkung der Natronlauge auf überschüssigen Zucker bei fehlendem Kupferoxyd) geworden ist. Man liest dann ab, wie viel von dem verdünnten Harne verbraucht ist.

Die Endreaction, d. h. die völlige Entfärbung der Flüssigkeit ist nur nach guter Abscheidung des Kupferoxydulniederschlags scharf zu erkennen. Man darf jedoch nicht lange Zeit warten, bis der Niederschlag sich ganz abgesetzt hat, da sonst ein Theil des Oxyduls durch Einwirkung des Sauerstoffs der Luft wieder in Kupferoxyd übergeführt wird. Ist also in der Flüssigkeit nicht sehr bald zu erkennen, ob noch blaue Färbung vorhanden ist, so filtrirt man schnell eine Probe derselben durch ein kleines Filter in ein kleines Erlenmeyer'sches Kölbchen, welches auf weisses Papier gestellt ist, giesst, wenn die Flüssigkeit noch blau erscheint, in den Kolben zurück und fährt mit der Titrirung fort. Es ist zweckmässig, mehrere kleine Filterchen und solche Kölbchen bereit zu halten, um nach weiterm Harnzusatz und Kochen wiederholt zu prüfen; zeigt die filtrirte Probe Gelbfärbung, so ist bereits zuviel Zucker zugesetzt. Bei einer Wiederholung der Titrirung lässt sich das Ende genauer feststellen, da jetzt die Grenzen des zu viel und zu wenig annähernd bekannt sind. Es empfiehlt sich durch eine dritte Titrirung das Resultat der zweiten zu controlliren. Die früher empfohlenen Endproben mit Salzsäure und Ferrocyankalium, Prüfung mit Fehling'scher Lösung u. s. w. sind für den Harn zu verwerfen.

Berechnung. Da 20 ccm Fehling'scher Lösung 0,1 g Traubenzucker entsprechen, so enthalten die bis zum Eintritt der Endreaction verbrauchten Cubikcentimeter Flüssigkeit 0,1 g Traubenzucker. Die Berechnung des Procentgehaltes unter Berücksichtigung der Verdünnung des Harns ist einfach.

Diese schnell auszuführende Methode, welche für klinische Zwecke vollständig ausreicht, kann ganz genaue Resultate nicht geben, da die der Berechnung zu Grunde liegende Annahme, dass 1 Aequiv. Glykose 10 Aequiv. Kupferoxyd reducire bei Innehaltung der oben gegebenen Vorschriften nicht richtig ist[1]). Das Reductionsvermögen der Glykose ist verschieden je nach der Concentration der Zuckerlösung und je nach dem Verdünnungsgrad der Fehling'schen Lösung. Nach Soxhlet reduciren 50 ccm unverdünnter Fehling'scher Flüssigkeit 23,75 ccm einer 1 proc. Glykoselösung während 2 Minuten dauernden Kochens, aber auch nur dann genau, wenn die Zuckerlösung nicht nach und nach, sondern mit einem Male zugesetzt wird. Hieraus ergiebt sich folgende Vorschrift für die Ausführung einer genauen Titration:

Genaue Titration. 50 ccm der Fehling'schen Lösung werden zum Kochen erhitzt und von dem unverdünnten Zuckerharn portionsweise so lange zugesetzt, bis die Flüssigkeit nach dem Kochen nicht mehr blau erscheint. Durch diese Vorprobe stellt man den Zuckergehalt

[1]) Soxhlet, Journ. f. pract. Chem. N. F. **21**. 227, 289. (1880.)

der Lösung annähernd — etwa auf 10 pCt. der Gesammtmenge — fest. Man verdünnt nun den Harn soweit, dass er 1 pCt. Zucker enthält. Die wahre Concentration wird dann 0,9 bis 1,1 pCt. sein. Diese geringe Abweichung von der gewünschten hat auf das Resultat keinen Einfluss. Man erhitzt nun neuerdings 50 ccm Fehling'scher Lösung, ohne dieselbe mit Wasser zu verdünnen, mit einer dem vorhergehenden Versuch entsprechenden Menge des verdünnten Zuckerharns 2 Minuten lang und sieht (event. nach dem Filtriren), welche Farbe die Flüssigkeit hat. Ist sie blau, so nimmt man zu einem neuen Versuch 1 ccm von der Zuckerlösung mehr; ist sie gelb, so nimmt man 1 ccm weniger. In der Anstellung solcher Versuche fährt man so lange fort, bis zwei Versuche in welchen nur um 0,1 ccm verschiedene Mengen Harnlösung angewendet wurden, Filtrate ergeben, von denen das eine bläulich, das andere gelblich befunden wird. Die zwischen diesen beiden Mengen liegende Quantität ist gerade nöthig zur Reduction von 50 ccm Fehling'scher Flüssigkeit, enthält also 0,2375 g Glykose. Unter Berücksichtigung der Verdünnung lässt sich leicht der Procentgehalt des Harns an Zucker berechnen.

Harnsäure, Kreatinin und andere die Fehling'sche Lösung ebenfalls reducirende Substanzen bedingen ihrer geringen Menge wegen im diabetischen Harne keinen wesentlichen Fehler. Ein reichlicher Gehalt von Pentose würde die Bestimmung des Traubenzuckers ungenau machen.

Titrimetrische Bestimmung bei sehr geringem Zuckergehalt.

Ausführung bei sehr geringem Zuckergehalt. Man verfährt zunächst wie in § 497 angegeben, verdunstet dann das alkoholische Filtrat des Schwefelbleiniederschlags auf dem Wasserbade zum Syrup, löst den Rückstand in Wasser, misst das Volumen der Lösung und giesst sie in eine Bürette. Andererseits verdünnt man 10 ccm Fehling'scher Lösung mit 40 ccm Wasser, bringt von dieser Mischung 5 oder 10 ccm genau abgemessen in eine Schale oder einen Kolben und titrirt, wie oben angegeben, bis zur völligen Entfärbung.

Um das Reductionsvermögen normaler Harne, an dem ausser Kohlehydraten noch Harnsäure, Kreatinin und andere Stoffe betheiligt sind, zu bestimmen, bedient man sich der Methode von Flückiger[1]) in der Modification von J. Munk[2]).

499. Bestimmung durch Titration mit Knapp'scher Lösung[3]).

Princip. Die Methode beruht darauf, dass Cyanquecksilber in alkalischer Lösung durch Traubenzucker reducirt wird.

Herstellung der Knapp'schen Lösung. Man löst 10 g trocknes Cyanquecksilber in Wasser, fügt 100 ccm Natronlauge (1,145 spec. Gew.) hinzu und füllt mit Wasser auf 1 Liter auf. Unter den unten beschriebenen Bedingungen entsprechen 40 ccm dieser Lösung 0,1 g Traubenzucker.

Ausführung. Man misst 40 ccm der Lösung in eine Porzellanschale, fügt das 3—4 fache Vol. Wasser hinzu, erhitzt zum Sieden und lässt den eiweissfreien (S. 427 Anm.) und in der § 498 angegebenen Weise verdünnten Harn aus einer Bürette sehr langsam, und indem man immer wieder zum Kochen erhitzt, zufliessen bis zur Endreaction. Diese besteht darin, dass ein Stückchen Filtrirpapier, auf das man mit einer Capillare einen

---

1) Zeitschr. für physiol. Chem. **9**. 323. (1885.)

2) Arch. f. pathol. Anat. **105**. 63. (1886.)

3) Knapp, Ann. Chem. Pharm. **154**. 252. (1870.)
Worm-Müller, Journ. f. pract. Chem. N. F. **26**. 78, 87. (1882.)

kleinen Tropfen der Flüssigkeit gebracht hat, sich eben nicht mehr gelblich färbt, wenn man es zuerst über rauchende Salzsäure und dann über starkes Schwefelwasserstoffwasser hält. Die Berechnung ist einfach.

Nach Hoppe-Seyler's Versuchen mit menschlichem Harn ist diese Titrirung weniger genau als die mit Fehling'scher Lösung. Auch Salkowski empfiehlt diese Methode nicht.

Durch Kohlensäure als Gewichtsverlust.

500. **Bestimmung durch Gährung.** a) Durch Bestimmung der Kohlensäure als Gewichtsverlust. Hierfür eignet sich der von Will und Fresenius zur Kohlensäurebestimmung empfohlene, in Fig. 12 abgebildete Apparat. Die beiden Kolben müssen möglichst klein und leicht sein. Man bringt in den Kolben *C* ein wenig durch Schlemmen mit Wasser und Absetzenlassen gereinigte Hefe und aus einer Bürette oder Pipette 20 ccm Harn, in den Kolben *D* concentrirte Schwefelsäure, setzt dann die Stopfen auf beide Kolben luftdicht auf, verschliesst auch die Oeffnung des Röhrchens *a* mit einem Stöpfchen *b* und wägt nun den ganzen so gefüllten Apparat. Nach kurzer Zeit wird sich beim Stehen bei gewöhnlicher Temperatur der

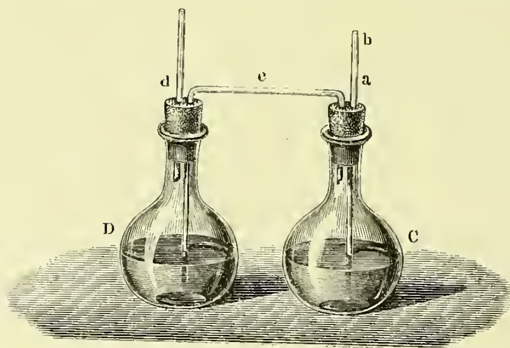


Fig. 12.

Eintritt der Gährung dadurch bemerklich machen, dass einzelne Luftbläschen in dem Kolben *C* an die Oberfläche der Flüssigkeit steigen, dann werden auch grössere Luftblasen bald durch die Schwefelsäure im Kolben *D* streichen; diese Entwickelung wird immer stürmischer im Verlaufe einiger Stunden, man muss jedoch 2 Tage lang bei 20—30° stehen lassen. Das Ende der Gährung erkennt man daran, dass die Flüssigkeit über der sich zu Boden setzenden Hefe klar wird und dass keine Gasblasen mehr entweichen. Man saugt dann, nachdem das Stöpfchen *b* entfernt ist, am Röhrchen *d* so lange Luft durch den Apparat, bis man sicher ist, dass alle Kohlensäure, die sich noch in dem Kolben befand, durch atmosphärische Luft ausgetrieben ist, setzt das Stöpfchen *b* wieder auf und wägt den Apparat abermals. Durch Subtraction des jetzt gefundenen Gewichts von dem des Apparates vor der Gährung erhält man das Gewicht der entwichenen Kohlensäure und dies multiplicirt mit 2,045 giebt das Gewicht des in 20 ccm Harn enthaltenen Zuckers.

b) Durch die Abnahme des specifischen Gewichts nach Roberts[1]). Zur Bestimmung dienen sehr genaue Aräometer (4 Decimalstellen), z. B. das von Lohnstein angegebene. Man verreibt den schwach sauren (event. mit etwas Weinsäure versetzten) Harn mit Hefe, misst das specifische Gewicht, überlässt ihn in einem mit Wattepfropf verschlossenen Kölbchen 24 bis 48 Stunden bei 20—35° der Gährung, bringt die zu Boden gesunkene Hefe wieder in Suspension und misst abermals bei annähernd derselben Temperatur, bei der die erste Bestimmung geschah. Die Differenz der specifischen Gewichte multiplicirt mit dem Factor 234 giebt den Zuckergehalt des Harns in Procenten an.

Bestimmung durch Abnahme des specifischen Gewichts.

c) Durch volumetrische Messung der Kohlensäure. Unter den für diesen Zweck empfohlenen Gährungssaccharimetern ist besonders das von Lohnstein[2]) angegebene zu nennen.

Bestimmung durch volumetr. Messung der Kohlensäure.

Nachweis des Milchzuckers im Harne.

501. Ein milchzuckerhaltiger Harn verhält sich den Reductionsproben (§ 92, 4, 5, 6, 10) gegenüber wie ein traubenzuckerhaltiger. Zur Unterscheidung des Milchzuckers von Traubenzucker dient die Rubner'sche Probe (§ 99, 6); ferner verschwindet in einem Harne, welcher Milchzucker enthält, das Reductionsvermögen nicht durch gewöhnliche Bierhefe. Es ist indessen nöthig, für diesen Zweck eine Reincultur von Hefe zu verwenden und den Harn vorher zu sterilisiren, damit nicht andere Mikroorganismen den Milchzucker zerstören.

Nachweis der i-Arabinose (Harnpentose) im Harne.

502. Zum Nachweis dienen die § 105 angegebenen Reactionen*) und das Osazon, das weit löslicher ist als das Glykosazon und in reinem Zustande bei 166—168° schmilzt; aber auch ein niederer Schmelzpunkt (etwa bei 156°) des direct aus dem Harne erhaltenen möglichst gereinigten Osazons ist noch für die Harnpentose charakteristisch.

Durch gleichzeitige Anwesenheit von Traubenzucker wird die Phloroglucinreaction gestört, die Orcinreaction nur unerheblich (Salkowski[3]). Um in einem solchen Fall das Arabinosazon vom Glykosazon zu trennen, empfiehlt sich die häufig wiederholte Behandlung des mit kaltem Wasser

Trennung des Arabinosazons vom Glykosazon.

---

*) Nach Bial wird die Orcinprobe bei Gegenwart von etwas Eisenchlorid empfindlicher. Man braucht nur bis zum beginnenden Kochen zu erhitzen, um das Ausfallen eines grünen Farbstoffs, bezw. bei geringerem Pentosegehalt während des Abkühlens nach 15—20 Sek. Grünfärbung der Lösung zu beobachten. Ueber das von Bial empfohlene Reagens siehe die Originalarbeit. Deutsche med. Wochenschr. 1902. S. 253.

[1]) Edinburgh medic. Journ. 1861.
Lohnstein, Arch. f. d. ges. Physiol. **59**. 479. (1895), **62**. 82. (1896.)

[2]) Allgem. medic. Centralztg. 1899. No. 101.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **27**. 523. (1899.)

gewaschenen Osazongemenges mit grossen Mengen Wasser von 60°. Das Arabinosazon löst sich, scheidet sich beim Erkalten ab und wird durch Wiederholung dieser Behandlung weiter gereinigt (Külz und Vogel[1]). Eine Entfernung des Traubenzuckers durch Hefegährung (wenigstens durch gewöhnliche nicht ganz reine Hefe) ist unzweckmässig, da hierbei wenigstens kleine Mengen der Pentose (offenbar durch der Hefe beigemengte Bacterien) verschwinden können.

Annähernde Bestimmung der Gesammtkohlehydrate im Harne nach v. Udránszky[2]).

503. Diese Bestimmung beruht auf der § 92, 9 beschriebenen α-Naphtolreaction. Man stellt Traubenzuckerlösungen her von bekanntem Gehalt (0,1, 0,06, 0,05 u. s. w. bis 0,01 pCt.), versetzt je 1 Tropfen dieser Lösungen in der a. a. O. angegebenen Weise mit 1 Tropfen α-Naphtollösung, $^1/_2$ ccm Wasser und 1 ccm conc. Schwefelsäure und erhält so eine Farbenskala. Ferner bereitet man sich in derselben Weise Proben mit einem Tropfen des mit gemessener Menge Wassers verdünnten eiweissfreien Harns, vergleicht die entstehende Farbe mit der Farbenskala und setzt das Verdünnen mit Wasser so lange fort, bis man eine Harnprobe hat, deren Mischfarbe genau oder möglichst genau der Mischfarbe einer der Zuckerlösungsproben entspricht. Man hat nun den Procentgehalt dieser Lösung mit der Zahl zu multipliciren, welche angiebt, auf das Wievielfache seines Volumens der Harn verdünnt war, um den Procentgehalt des untersuchten Harns an Kohlehydraten — bezogen auf Traubenzucker — zu finden.

Nachweis und Bestimmung von Aceton und Acetylessigsäure im Harne.

504. Ueber den Nachweis des Acetons bei Abwesenheit und bei Anwesenheit von Acetylessigsäure siehe § 79, über den Nachweis der Acetylessigsäure siehe § 80.

Verfahren nach Huppert-Messinger.

Zur quantitativen Bestimmung des Acetons dient das Verfahren nach Huppert-Messinger[3]). Bei gleichzeitiger Anwesenheit von Acetylessigsäure wird auch das in ihr enthaltene Aceton mitbestimmt.

Princip. Titrimetrische Bestimmung der Menge Jod, welche erforderlich ist, das durch Destillation aus dem Harne abgeschiedene Aceton in Jodoform überzuführen.

Erforderliche Lösungen. 1. 50 proc. Essigsäure. 2. $^n/_{10}$ Jodlösung und $^n/_{10}$ Thiosulfatlösung (§ 20).

Ausführung. 500 ccm normal saurer*) Harn (von Fieberharn 100 ccm, von acetonreicherem Harn noch weniger) werden mit Essigsäure (auf 100 ccm Harn 2 ccm 50 proc. Essigsäure) versetzt und bis auf $^1/_{10}$ des Volumens abdestillirt. Das Destillat wird in einer mit doppelt durchbohrtem Kork versehenen und mit Eis gekühlten Vorlage aufgefangen. Mittelst der einen Bohrung ist die Vorlage am Kühler befestigt, mittelst der andern mit einem

---

*) Alkalischer Harn wird durch Zusatz von Essigsäure zunächst auf die normale Acidität gebracht.

1) Zeitschr. f. Biol. **32**. 185. (1895.)

2) Vergl. Treupel, Zeitschr. f. physiol. Chem. **16**. 55. (1892.)

3) Huppert, Analyse des Harns. 1898. S. 760.

mit Wasser gefüllten Kugelapparat verbunden. Destillat und vorgelegtes Wasser werden vereinigt, zur Entfernung von salpetriger Säure und Ameisensäure mit Calciumcarbonat in einem Kolben ordentlich geschüttelt und in gleicher Weise wieder destillirt. Das nun erhaltene Destillat und vorgelegte Wasser werden mit 1 ccm achtfach verdünnter Schwefelsäure versetzt und abermals in gleicher Weise der Destillation unterworfen. Das neue Destillat bringt man in eine Flasche mit gut eingeriebenem Glasstöpsel, die so gross sein muss, dass sie vom Destillat, den Spülwässern und den hinzuzufügenden Reagentien nur bis zu $^1/_3$ gefüllt wird, fügt einen grossen Ueberschuss abgemessener Menge $^n/_{10}$ Jodlösung hinzu, schwenkt um, tropft starke nitritfreie Alkalilauge im Ueberschuss zu, verschliesst die Flasche, schüttelt $^1/_4$ Min. und lässt noch 5 Min. stehen. Jetzt wird der Stopfen in die Flasche abgespritzt, die Flüssigkeit mit conc. Salzsäure angesäuert und das Jod zurücktitrirt. Zu dem Zweck lässt man $^n/_{10}$ Thiosulfatlösung aus der Bürette zufliessen, bis die Mischung nur noch schwach gelb ist, fügt einige Cubikcentimeter Stärkelösung zu und nun weiter Thiosulfatlösung bis zum Verschwinden der blauen Farbe. Ist die Grenze überschritten, so misst man noch etwas Jodlösung in die Flüssigkeit und titrirt aufs Neue zurück. 1 ccm $^n/_{10}$ Jodlösung entspricht 0,967 mg Aceton.

Nachweis und Bestimmung der β-Oxybuttersäure im Harne.

505. Ueber den Nachweis siehe § 74.

Für die quantitative Bestimmung werden nach Bergell[1]) 100 bis 300 ccm Harn (zuckerhaltiger nach der Vergährung) mit Natriumcarbonat schwach alkalisch gemacht und auf dem Wasserbade zum Syrup eingedampft. Der Rückstand wird nach dem Erkalten zunächst mit syrupförmiger Phosphorsäure unter Kühlung, dann mit 20—30 g fein gepulvertem, geglühtem Kupfersulfat und 20—25 g sehr feinkörnigem Sand verrieben, die trockne Masse quantitativ in die Papierhülse eines Soxhletapparates gebracht und im Extractionsapparat mit Aether, der durch geglühtes Kupfersulfat getrocknet ist, erschöpft. Das ist nach einer Stunde der Fall. Nun wird abfiltrirt, das Kupfersulfat mit trocknem Aether ausgewaschen, der Aether abdestillirt, der Rückstand mit 20 ccm Wasser aufgenommen, die wässrige Lösung mit sehr wenig Thierkohle entfärbt und polarisirt. Mit Hülfe der specifischen Drehung der β-Oxybuttersäure $[\alpha]_D = -24{,}12^0$ lässt sich aus dem gefundenen Werth leicht die Menge der Säure berechnen (§ 32).

Bestimmung der β-Oxybuttersäure.

Nachweis der Milchsäure im Harne.

506. Der eingedampfte Harn wird mit dem 10 fachen Volumen Alkohol gemischt, nach 12 Stunden abfiltrirt, das eingedampfte Filtrat mit Phosphorsäure angesäuert und mit grossen Mengen Aether wiederholt ge-

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **33**. 310. (1901.)

schüttelt. Der Aetherrückstand wird in wenig Wasser gelöst, event. filtrirt, eine halbe Stunde auf dem Wasserbade mit reinem Bleicarbonat erhitzt, nach dem Erkalten filtrirt, das mit Schwefelwasserstoff behandelte Filtrat stark eingeengt und abermals mit Aether ausgeschüttelt, der Aetherrückstand zur Darstellung des Zinksalzes benutzt und dieses untersucht (§ 73).

Nachweis von Fett im Harne.

507. Fett erscheint im Harne in seltenen Fällen entweder in feinster Vertheilung und ein milchiges Aussehen des Harns bewirkend (Chylurie) oder in grösseren Tropfen, die sich an der Oberfläche ansammeln. Unter dem Mikroskop sieht man Fetttröpfchen und beim Schütteln mit Aether klärt sich der Harn. Beim Verdunsten des abgegossenen Aethers hinterbleibt eine fettige Masse, in der sich Oleïn, Palmitin und Stearin nachweisen lassen (§ 89).

Nachweis der mucinähnlichen Substanz im Harne.

508. Sehr häufig beobachtet man, dass im normalen Harne auf Zusatz von Essigsäure Trübung oder Fällung eintritt. Nach K. Mörner[1]) ist dieselbe bedingt durch den Gehalt jeden normalen Harns an kleinen Mengen von Eiweiss einerseits und eiweissfällenden Mitteln (Chondroïtinschwefelsäure, Nucleïnsäure) andererseits, welche auf Zusatz von Essigsäure als unlösliche Verbindungen ausfallen. Die Salze des Harns stören die Ausfällung. Unter günstigen Versuchsbedingungen erhält man aber in jedem normalen Harne diese Ausscheidung u. z. dann, wenn man die Salze durch Dialyse vermindert, Chloroform und Essigsäure zusetzt und schüttelt.

Nachweis und Bestimmung von Eiweiss im Harne.

509. Das pathologischer Weise im Harne auftretende Eiweiss ist fast regelmässig ein Gemenge von Serumalbumin und Serumglobulin, aber in sehr verschiedenen Verhältnissen. Die Gesammtmenge beträgt meist weniger als 1 pCt., selten steigt sie bis auf 4 pCt.; doch sind auch 8 pCt. beobachtet worden.

Nachweis des Eiweiss im Harne.

510. **Nachweis des Eiweiss.** Man stellt mit dem klaren event. filtrirten Harne folgende Reactionen*) an:

1. Eine Portion Harn wird im Reagensglase erhitzt; entsteht Niederschlag oder Trübung, so können sie von Eiweiss oder phosphorsaurem Kalk (kohlensaurem Kalk bei Pflanzenfressern) herrühren; löst sich der Niederschlag nicht auf Zusatz von Salpetersäure oder entsteht ein Niederschlag erst nach Zusatz dieser Säure, so enthält der Harn Eiweiss.

---

*) Die im normalen Harne vorhandenen geringen Eiweissmengen (§ 508) werden durch diese Reactionen nicht angezeigt.

[1]) Skand. Arch. f. Physiol. **6**. 332. (1895.)

Propeptone und Peptone geben diese Reaction nicht.

Die Schätzung der Menge des Eiweiss aus der Höhe des flockigen Niederschlags, welche sich nach der Coagulation eines bestimmten Volumens des Harns nach bestimmter Zeit im Reagensglase abgesetzt hat, ist eine so trügerische, dass sie kaum einen Anhaltspunkt gewähren kann.

2. Beim Kochen des mit dem gleichen Volumen gesättigter Natriumsulfatlösung und etwas Essigsäure versetzten Harns entsteht bei Anwesenheit von Eiweiss Niederschlag.

Propeptone und Peptone geben diese Reaction nicht.

3. Bringt man unter den Harn in einem Reagensglase mit einer feinen Pipette vorsichtig starke Salpetersäure, so entsteht bei Anwesenheit von Eiweiss an der Berührungsstelle eine schwach begrenzte, weisse, ringförmige Ausscheidung (Heller'sche Eiweissprobe).

Propeptone geben dieselbe Reaction.

Ein nicht an der Berührungsstelle beider Flüssigkeiten, sondern etwas über dieser entstehender trüber Ring ist nicht auf Eiweiss zu beziehen, sondern kann herrühren von der mucinähnlichen Substanz (§ 508) oder in einem harnsäurereichen Harne von Harnsäure. Bei Wiederholung der Probe mit dem mit Wasser verdünnten Harne wird im ersteren Fall die ringförmige Trübung deutlicher werden, im letzteren ausbleiben.

4. Auf Zusatz von Essigsäure und einigen Tropfen Ferrocyankaliumlösung entsteht bei Anwesenheit von Eiweiss Trübung oder Niederschlag.

Propeptone geben dieselbe Reaction.

Entsteht schon auf Zusatz von Essigsäure allein Niederschlag, so ist diese Probe nicht zu verwenden.

Die Farbenreactionen auf Eiweiss (§ 280 B) lassen sich nicht direct im Harn anstellen, wohl aber mit den erhaltenen und abfiltrirten Niederschlägen.

Nachweis von Globulin und Albumin.

Zum Nachweis von Globulin und Albumin neutralisirt man den Harn mit Ammoniak und versetzt ihn mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung: Das Globulin fällt aus, während das Albumin aus dem Filtrat durch weiteren Zusatz von Ammonsulfatlösung oder durch Erhitzen abgeschieden wird.

Bestimmung des Eiweiss. Zur genauen Bestimmung des Eiweiss dient eine der folgenden Methoden.

Bestimmung nach Scherer.

511. Nach Scherer. Man misst vom filtrirten Harne 50 oder 100 ccm in eine hinreichend geräumige Porzellanschale ab, erhitzt unter gutem Umrühren über einer kleinen Flamme zum Kochen, fügt, falls keine gute flockige Gerinnung erfolgt, vorsichtig einige Tropfen sehr verdünnter Essigsäure hinzu, erhitzt wieder zum Sieden und prüft abermals, ob die Flüssigkeit über dem Coagulum klar erscheint. Ist dies erreicht, so filtrirt man noch heiss durch ein kleines, aschefreies, bei 120° getrocknetes und gewogenes Filter, sammelt auf demselben das ganze Coagulum, wäscht gleich nach dem Ablaufen der Flüssigkeit mit warmem Wasser, zuletzt mit Alkohol und Aether sorgfältig aus und trocknet Filter und Coagulum im Luftbade bei 120° längere Zeit bis zum constanten Gewicht. Man ver-

ascht dann Filter und Niederschlag in einem gewogenen Platintiegel, wägt wieder und zieht das so gefundene Gewicht der Asche von dem Gewicht der Trockensubstanz ab.

Bei dieser Bestimmung wird leicht etwas zu wenig gefunden, da auch beim vorsichtigsten Ansäuern mit Essigsäure oft etwas Eiweiss gelöst bleibt; man prüft zu diesem Zweck das Filtrat mit Essigsäure und Ferrocyankalium. Ist der Harn sehr reich an Eiweiss, so verdünnt man ihn vor dem Kochen mit seinem doppelten Volumen oder noch mehr Wasser, oder giesst ihn in kleinen Portionen in das bereits siedende Wasser unter Umrühren.

Bestimmung nach Devoto.

512. Nach Devoto[1]). 100 ccm filtrirter, sauer reagirender event. angesäuerter Harn werden in einem Becherglase mit 80 g Ammonsulfat versetzt, bis zur Lösung des Salzes im Wasserbade unter Umrühren erwärmt und dann noch 30—40 Min. in einem Dampftopf erhitzt. Das entstandene Eiweisscoagulum wird durch ein aschefreies, gewogenes Filter abfiltrirt und weiter verfahren, wie bei der vorigen Methode. Diese Methode, welche den Vortheil hat, dass ein Ueberschuss von Säure nicht schadet, giebt in gewöhnlichen Fällen gute Resultate, ist aber bei harnsäurereichen conc. Harnen, besonders wenn sie gleichzeitig wenig Eiweiss enthalten, nicht zu brauchen, da andere Harnbestandtheile, besonders harnsaures Ammoniak, mit in das Coagulum gehen (Redelius[2]).

Bestimmung nach Berzelius.

513. Nach Berzelius. Man verdunstet 30 oder 50 ccm filtrirten und mit Essigsäure angesäuerten Harn in einer kleinen Schale im Wasserbade möglichst bis zur Trockne, zerreibt den Rückstand mit heissem Wasser, bringt ihn auf ein bei 120° getrocknetes und gewogenes aschefreies Filter, wäscht mit heissem Wasser und darauf mit heissem Alkohol bis zur Erschöpfung aus, trocknet bei 120° bis zum constanten Gewicht und verfährt weiter wie § 511 angegeben.

Bestimmung des Globulins.

514. Bestimmung des Globulins nach Hofmeister und Pohl[3]). 50 oder 100 ccm des mit Ammoniak bis zum Verschwinden der sauren Reaction versetzten Harns werden in einem Becherglase mit dem gleichen Vol. einer gesättigten, neutral reagirenden Ammonsulfatlösung vermischt; der Niederschlag (Globulin) wird nach mindestens einstündigem Stehen auf ein gewogenes aschefreies Filter gebracht und mit halbgesättigter Ammonsulfatlösung bis zum Verschwinden der Reaction mit Ferrocyankalium + Essigsäure im Filtrat ausgewaschen. Man erhitzt jetzt Filter und Niederschlag einige Zeit auf 110°, wäscht das coagulirte Globulin mit kochendem Wasser, Alkohol und Aether aus und verfährt weiter wie § 511 angegeben. Die Menge des Albumins erfährt man durch Subtraction der Globulinmenge von der Gesammteiweissmenge.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **15.** 465. (1891.)

[2]) Maly's Jahresber. 1892. S. 241.

[3]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **20.** 434. (1886.)

Annähernde Bestimmung des Eiweiss. Von den vielen Methoden, welche in der Absicht, die Eiweissbestimmung für klinische Zwecke einfacher zu gestalten, angegeben worden sind, hat keine Anspruch auf unbedingte Zuverlässigkeit. Die beste von ihnen, die Methode von Záhor[1]), mit der man den Eiweissgehalt aus dem Unterschied der spec. Gewichte des Harns vor und nach der Coagulation durch Erhitzen unter Säurezusatz ermittelt, erfordert grosse Sorgfalt in der Ausführung und ist kaum einfacher als eine der oben beschriebenen. Im Folgenden sollen das Verfahren von Roberts-Stolnikow, welches von Brandberg[2]) weiter ausgearbeitet worden ist, und das Verfahren von Esbach[3]) beschrieben werden. Sie sind leicht und schnell auszuführen und unter Umständen für klinische Zwecke verwendbar.

Annähernde Bestimmung nach Roberts-Stolnikow.

515. Nach Roberts-Stolnikow. Die Methode beruht auf der Beobachtung, dass die Heller'sche Eiweissprobe (§ 510, 3) d. h. das Auftreten einer ringförmigen Trübung an der Berührungsfläche zwischen Salpetersäure und eiweisshaltiger Flüssigkeit nach 2—3 Minuten schwach aber deutlich sichtbar wird, wenn die Lösung 0,0033 pCt. Eiweiss enthält.

Zur Ausführung nach Brandberg verdünnt man den Harn mit 9 Vol. Wasser und bereitet sich von diesem Zehntelharn eine Reihe von Versuchsflüssigkeiten bekannter Verdünnung. Darauf giesst man in eine Anzahl Reagensgläser aus einer Pipette einige Cubikcentimeter conc. Salpetersäure mit der Vorsicht, dass die Wandungen oberhalb nicht benetzt werden, vertheilt in die einzelnen Gläser mit einer sehr fein ausgezogenen Pipette etwa gleiche Volumina der verschieden verdünnten Harnlösungen, so dass beide Flüssigkeiten sich nicht mischen und notirt die Zeit, wann in jeder Probe ein eben sichtbarer bläulich weisser Ring auftritt. Diejenige Probe, in welcher das innerhalb 2—3 Minuten geschieht, enthält 0,0033 pCt. Eiweiss. Man erfährt den Eiweissgehalt des unverdünnten Harns durch folgende Gleichung: $p = \frac{k + x}{k \,.\, 30}$, in der p die Procente Eiweiss im unverdünnten Harn, k die zu jeder Probe verwendete Menge Zehntelharn und x die zur Verdünnung verwendete Wassermenge sind.

Annähernde Bestimmung nach Esbach.

516. Nach Esbach. In ein für diesen Zweck besonders graduirtes Rohr wird bis zu einer bestimmten, mit U bezeichneten, Marke der sauer reagirende, nöthigenfalls mit Essigsäure angesäuerte Harn, darauf bis zu einer zweiten, mit R bezeichneten, Marke das Reagens (eine Lösung, enthaltend 2 pCt. Citronensäure und 1 pCt. Pikrinsäure) eingegossen, vorsichtig umgeschüttelt und 24 Stunden an einem kühlen Ort stehen gelassen. Nach

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie. **12**. 484. (1888.)

2) Maly's Jahresber. 1880. S. 265.
Vergl. auch Hammarsten, Ebendas. 1883. S. 217.

3) Gaz. méd. de Paris. 1874. p. 61.
Esbach, Dosage de l'albumine. Paris 1886.

dieser Zeit liest man ab, bis zu welchem Theilstrich der Niederschlag reicht und erfährt so ohne Weiteres die Quantität Eiweiss in Grammen für 1000 ccm Harn. Eiweissreiche Harne müssen zuvor mit Wasser verdünnt werden. Unbedingt nöthig ist, dass die Proben stets bei derselben Temperatur ausgeführt werden.

Nachweis von Propeptonen im Harne.

Während Pepton im Harn bis jetzt nicht nachgewiesen, ist das Vorkommen von Propeptonen unter pathologischen Verhältnissen festgestellt. Sie zeigen das Verhalten der secundären Albumosen.

Bestimmung nach Hofmeister.

517. Verfahren nach Hofmeister[1]) mit Modificationen von Salkowski[2]) und v. Aldor[3]). Dasselbe setzt voraus, dass der Harn frei von Eiweiss ist und keine mucinähnliche Substanz (§ 508) enthält d. h. auf Zusatz von Essigsäure klar bleibt.

Zur Entfernung von vorhandenem Eiweiss wird ein halber Liter Harn in einer Schale mit 10 ccm conc. Natriumacetatlösung versetzt, conc. Lösung von Eisenchlorid tropfenweise bis zur bleibend rothen Farbe zugefügt, die stark saure Reaction bis zur ganz schwach sauren abgestumpft, gekocht und nach dem Erkalten filtrirt. Das Filtrat muss sich bei der Prüfung mit Essigsäure und Ferrocyankalium als frei von Eiweiss und Eisen erweisen.

Zur Entfernung der mucinähnlichen Substanz fällt man den Harn mit unzureichender Menge von Bleizuckerlösung.

in urobilinarmen Harnen.

Handelt es sich um urobilinarme Harne, so werden 50 ccm Harn oder auch weniger in einem Becherglase mit 10 pCt. conc. Salzsäure versetzt und mit Phosphorwolframsäure gefällt, alsdann auf dem Drahtnetz erwärmt. Dabei zieht sich der Niederschlag alsbald zu einer am Boden des Glases haftenden harzartigen Masse zusammen. Man giesst nun sofort die überstehende, fast ganz klare Flüssigkeit möglichst vollständig ab, spült die Masse zweimal mit Wasser ab, übergiesst sie mit einigen Cubikcentimetern Wasser und löst sie durch Zusatz von Natronlauge. Die zunächst tiefblaue Flüssigkeit wird auf dem Drahtnetz erwärmt, und, sobald sie eine schmutzig graugelbe Beschaffenheit angenommen hat, in ein Reagensglas gegossen, abgekühlt und unter Umschütteln tropfenweise mit verdünnter Kupfersulfatlösung versetzt. Bei Gegenwart von Propepton tritt violette oder röthliche, auch gelbrothe Färbung (Biuretreaction § 280, 8) auf, die bei einem Propeptongehalt von 0,015 pCt. noch deutlich ist.

in urobilinreichen Harnen.

Bei urobilinreichen Harnen (welche einen deutlichen Urobilinstreifen bei der spectroskopischen Untersuchung zeigen § 269) ist das Urobilin, welches selbst die Biuretreaction giebt, aus dem Phosphorwolframsäureniederschlag zu entfernen, nach v. Aldor am Besten mittelst absol. Alkohols. Man

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. 4. 253. (1880.)

2) Centralbl. f. d. med. Wiss. 1894. S. 113.

3) Berl. klin. Wochenschr. 1899. S. 764 u. 785.

extrahirt den Niederschlag mit absol. Alkohol oder (noch besser) man nimmt die Fällung mit Phosphorwolframsäure in einem Reagensglase vor, centrifugirt, giesst die Flüssigkeit ab, schüttelt den Niederschlag mit absol. Alkohol durch, centrifugirt wieder und wiederholt diesen Process mit neuem Alkohol, bis Niederschlag und Alkohol farblos sind. Nun wird der Niederschlag in Wasser suspendirt, durch Natronlauge gelöst und weiter wie oben behandelt.

518. Verfahren nach Devoto[1]) in der Modification von Bang[2]). Bestimmung nach Devoto. 10 ccm Harn (die vorherige Entfernung von Eiweiss und mucinähnlicher Substanz ist nicht nöthig) werden mit 8 g Ammonsulfat in einem Reagensglase bis zur Lösung erhitzt, einen Augenblick aufgekocht und sofort $^1/_2$ bis 1 Min. centrifugirt. Die Flüssigkeit wird abgegossen, der Bodensatz mit einem Glasstabe zerrieben und mehrmals mit Alkohol (zur Entfernung des Urobilins) extrahirt, dann in wenig Wasser aufgeschlemmt, zum Sieden erhitzt und filtrirt. Das Filtrat wird mit einigen Tropfen Schwefelsäure angesäuert, mit Chloroform geschüttelt (um das Urobilin völlig zu entfernen) und nach Abpipettiren des Chloroforms zur Biuretreaction benutzt. Empfindlichkeitsgrenze bei 0,05—0,02 pCt. Propepton.

Ueber den Bence Jones'schen Eiweisskörper siehe § 315.

Ueber Oxyproteïnsäure (Uroprotsäure) siehe § 316.

Nachweis der Farbstoffe im Harne.

519. Urochrom, Urobilin, Uroerythrin, Uroroseïn. Ueber diese Farbstoffe, welche im normalen Harne vorkommen, in pathologischen Harnen z. Th. in vermehrter Menge vergl. § 264 ff.

520. **Gallenfarbstoffe.** Aus stark icterischem Harne kann man oft ohne Weiteres durch Schütteln mit Chloroform, Abgiessen und Verdunsten desselben, nochmaliges Lösen des Rückstandes in wenig Chloroform und Verdunstenlassen auf dem Uhrglase rothe rhombische Prismen von Bilirubin erhalten, welche mit Salpetersäure mikroskopisch sehr schön die Regenbogenfarben zeigen, in Alkalien sich leicht lösen und an der Luft bald eine grüne Färbung geben.

Zum Nachweis dienen die folgenden fünf Reactionen. Für Harne, Nachweis der Gallenfarbstoffe im Harne. die nicht zu viel andere Farbstoffe enthalten, sind alle brauchbar; die unter 4 und 5 aufgeführten sind sehr viel empfindlicher, als die anderen und gestatten noch 0,01—0,02 mg Gallenfarbstoff in 10 ccm Harn nachzuweisen. In dunkeln, indicanreichen Harnen ist die Rosin'sche Probe den beiden ersten vorzuziehen und bei gleichzeitiger Anwesenheit von Blutfarbstoff, Methämoglobin, viel Urobilin u. s. w. wendet man am Besten die Probe 4 oder 5 an.

1. Gmelin's Probe (§ 260, 1) in der Modification von Rosen-

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 15. 465. (1891.)

[2]) Skand. Arch. f. Physiol. 8. 272. (1898.)

bach[1]). Der Harn wird durch ein kleines Filter, event. mehrmals, filtrirt, das Filter ausgebreitet, oberflächlich mit trocknem Filtrirpapier abgetupft und mit einzelnen Tropfen Salpetersäure bespritzt: es bilden sich im Umkreis der Tropfen concentrische Ringe, die von innen nach aussen gelbroth, roth, violett, blau und grün gefärbt erscheinen.

2. Hammarsten's Probe[2]). Man vermischt 1 Th. des § 260, 2 beschriebenen Säuregemisches mit 5 Th. Alkohol und verfährt unter Benutzung des Harns statt der Bilirubinlösung genau wie a. a. O. beschrieben.

3. Rosin's Probe[3]). Man überschichtet den Harn (bei alkalischer Reaction nach Ansäuern mit Essigsäure) in einem Reagensglase mit 2 bis 3 ccm einer etwa 1 proc. alkoholischen Jodlösung. Sofort oder nach 1 Min. tritt an der Grenzschichte ein grasgrüner Ring auf, der sich längere Zeit, oft stundenlang hält.

4. Huppert's Probe[4]). Dieselbe wird nach Salkowski[5]) und J. Munk[6]) am Besten in folgender Weise ausgeführt: Man macht 10 ccm Harn mit Sodalösung alkalisch, setzt Calciumchloridlösung so lange zu, als noch ein Niederschlag entsteht, filtrirt durch ein kleines Filter, wäscht mit Wasser aus, übergiesst Filter und Niederschlag in kleiner Porzellanschale mit 10 ccm salzsäurehaltigem Alkohol (5 ccm conc. Salzsäure auf 100 ccm Alkohol) und erhitzt die Lösung im Reagensglase: grüne bis blaue Färbung.

5. Modificirte Hammarsten'sche Probe[1]). Man giesst 10 ccm Harn in ein etwa 15 ccm fassendes Rohr einer Centrifuge, setzt einige Cubikcentimeter Chlorbariumlösung (bei Gegenwart reichlicher Mengen anderer Farbstoffe besser Chlorcalciumlösung) zu, mischt und centrifugirt $1/2$—1 Min. Jetzt giesst man die etwas trübe Flüssigkeit vom Bodensatz ab, bringt 1—2 ccm des Reagens*) hinzu, schüttelt stark und centrifugirt von Neuem etwa $1/2$ Min. (bei Verwendung von Chlorcalcium ist das zweite Centrifugiren unnöthig): grüne Lösung.

521. **Blut und Blutfarbstoffe.** Bei Blutungen in die Harnwege findet sich Blut im Harne und verleiht ihm, wenn die Menge nicht zu gering ist, eine braunröthliche Farbe. Man erkennt es, wenn man das Sediment, welches sich binnen einiger Stunden absetzt, auf Blutkörperchen untersucht.

Ausserdem kann Blutfarbstoff in gelöstem Zustande in den Harn übergehen u. z. handelt es sich nach Hoppe-Seyler in allen Fällen

---

*) Siehe oben unter 2; bei sehr geringem Gallenfarbstoffgehalt nimmt man das Säuregemenge im Verhältniss von 1 : 99 (statt 1 : 19).

1) Centralbl. f. d. med. Wiss. 1876. S. 5.

2) Skand. Arch. f. Physiol. **9**. 313. (1899.)

3) Berl. klin. Wochenschr. 1893. S. 106.

4) Arch. f. Heilk. **8**. 351 u. 476. (1867.)

5) Praktikum der physiol. u. pathol. Chem. 2. Aufl. S. 183.

6) Arch. f. Anat. u. Physiol. Physiol. Abthlg. 1898. S. 361.

im frisch secernirten Harne um Methämoglobin, das sich allerdings leicht durch Fäulniss, sei es schon in der Blase, sei es nach der Entleerung, in Hämoglobin umwandelt. Nach andern kann auch der frisch secernirte Harn Hämoglobin enthalten. Ein solcher Harn kann roth, braun bis schwarz aussehen.

Ein Blut oder Blutfarbstoff enthaltender Harn giebt:

Nachweis von Blut oder Blutfarbstoff im Harne.

1. Bei der spektroskopischen Prüfung die Streifen des Oxyhämoglobins resp. Methämoglobins (Spectraltafel), welches sich leicht und schnell in Hämoglobin und Oxyhämoglobin überführen lässt (§ 363),

2. beim Kochen flockigen, je nach der Reaction braunen oder grünlichen Niederschlag,

3. beim Kochen mit Natronlauge einen sich allmählich absetzenden hämatinhaltigen und daher roth gefärbten Niederschlag von Calciumphosphat (Heller'sche Blutprobe).

Sehr kleine Mengen von Blut resp. Blutfarbstoff lassen sich noch in folgender Weise nachweisen: Eine grössere Menge (100 ccm) Harn wird nach Zusatz von etwas Eiweisslösung (oder eiweisshaltigem Harn) zum Kochen erhitzt. Das Coagulum wird abfiltrirt, ausgewaschen, abgepresst und mit schwefelsäurehaltigem Alkohol zerrieben, die Mischung erwärmt und filtrirt. Das Filtrat giebt nach Zusatz von Natronlauge und Schwefelammonium die Streifen des Hämochromogens (Spectraltafel).

522. **Hämatoporphyrin.** Zum Nachweis des Hämatoporphyrins, welches normaler Weise höchstens in Spuren, reichlicher unter pathologischen Verhältnissen vorkommt, versetzt man den Harn mit dem 5. Theil seines Vol. 10 proc. Natronlauge. Der Phosphatniederschlag, welcher das Hämatoporphyrin mitreisst, wird gewaschen und mit salzsäurehaltigem Alkohol behandelt. Die alkoholische Lösung zeigt das Spectrum des Hämatoporphyrins in saurer Lösung (Spectraltafel). Um den Nachweis im normalen Harne zu führen, sind grössere Harnmengen (1 Liter u. mehr) zu verwenden.

Nachweis und Bestimmung von Aminosäuren im Harne.

523. Während Aminosäuren im normalen menschlichen Harne in nur geringer Menge auftreten, erscheinen wenigstens einige derselben unter manchen pathologischen Verhältnissen reichlicher. Speciell sind Leucin und Tyrosin (acute Leberatrophie, Phosphorvergiftung) sowie Cystin (Cystinurie) gefunden worden.

Leucin und Tyrosin. Zur Isolirung verfährt man so, wie es S. 233 für die Isolirung des Tyrosins angegeben worden ist, zur Trennung beider nach S. 177. Ueber den Nachweis siehe S. 172 bezw. S. 234.

In sehr seltenen Fällen und bei sehr reichlichem Gehalt scheidet sich Tyrosin in feinen Krystallnadeln als Sediment aus. Es löst sich nach dem Abfiltriren leicht in Ammoniak und krystallisirt beim Verdunsten des Ammoniaks wieder in feinen Nadeln aus.

Cystin. Zum Nachweis verfährt man nach S. 186.

Zur annähernden quantitativen Bestimmung (bei Cystinurie) kann man:

1. das in der S. 186 beschriebenen Weise erhaltene Aetherextrakt benutzen. Dasselbe wird mit 12 proc. Natronlauge neutralisirt, die Lösung der Natriumsalze mit dem doppelten Volumen derselben Natronlauge versetzt und auf 0° abgekühlt. Nach zwei Stunden filtrirt man den aus glänzenden Blättchen bestehenden Niederschlag des in Natronlauge fast unlöslichen Natriumsalzes des Benzoylcystins ab, wäscht einmal mit wenig kalter Natronlauge, löst in 600 ccm Wasser und säuert stark mit Salzsäure an. Das in Form einer Gallerte abgeschiedene Benzoylcystin wird durch Schütteln und Zertrennen mit einem Glasstabe in der Flüssigkeit vertheilt, mit der Saugpumpe abfiltrirt, mit Wasser gewaschen, getrocknet und gewogen. Die Menge beträgt bei sorgfältiger Beobachtung der angegebenen Verhältnisse stets annähernd 40 pCt. der theoretischen Ausbeute an Benzoylcystin; demgemäss ist der wirkliche Gehalt zu berechnen[1]).

2. sich der indirecten Methode bedienen[2]):

Man bestimmt in einer Portion Harn den Gesammtschwefel (zu dem Zweck werden 25 ccm Harn mit 3 g Salpeter und 3 g Natron im Silbertiegel geschmolzen und weiter nach § 445 behandelt), in einer andern die Gesammtschwefelsäure nach § 470, 1 und erfährt auf diese Weise, wie viel Procent des Gesammtschwefels nicht in Form von schwefelsauren und ätherschwefelsauren Salzen vorliegt; unter normalen Verhältnissen beträgt diese Quantität ungefähr 17,2 pCt. des Gesammtschwefels. Zieht man diesen Werth von dem gefundenen ab, so erhält man diejenige Menge Schwefel, welche dem Cystin entspricht.

Die erstere Methode lässt sich auch zur Bestimmung des Cystins im normalen Harn verwenden.

Bestimmung der Aminosäuren.

524. Quantitative Bestimmung von Aminosäuren nach M. Krüger und J. Schmid[3]).

Princip. Die Methode beruht darauf, dass die Aminosäuren durch Phosphorwolframsäure nicht gefällt werden und beim Erhitzen mit Schwefelsäure im geschlossenen Rohr auf 160—180° kein Ammoniak abspalten.

Ausführung. 50 ccm Harn werden genau wie es S. 428 angegeben mit Phosphorwolframsäure gefällt und nach 2 Minuten filtrirt. In einer Probe des Filtrats, welche 5 ccm Harn entspricht, bestimmt man den Gesammtstickstoff nach Kjeldahl (§ 453, a). Eine zweite gleich grosse Probe wird im Rohr mit dem halben Vol. conc. Schwefelsäure 3 bis 4 Stunden (die Zeit des Anwärmens nicht mitgerechnet) auf

---

[1]) v. Udránszky und Baumann, Zeitschr. f. physiol. Chem. **15**. 88. (1891.)

[2]) Vergl. Mester, Ebendas. **14**. 109. (1890.)

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **31**. 556. (1901.)

160—180° erhitzt. Den Rohrinhalt giesst man in einen Destillationskolben, spült die Röhre der Reihe nach mit Wasser, wenig Natronlauge (um den an den Wandungen sitzenden Niederschlag von phosphorwolframsaurem Ammoniak zu lösen) und wieder mit Wasser nach, macht mit Natronlauge*) alkalisch unter Vermeidung eines grossen Ueberschusses (für 5 ccm conc. Schwefelsäure genügen 20—22 ccm 33 proc. Natronlauge), destillirt, fängt das übergehende Ammoniak in 50 ccm $^{n}/_{10}$ Schwefelsäure auf und bestimmt die Stickstoffmenge, durch Zurücktitriren mit $^{n}/_{10}$ Lauge. Zieht man den erhaltenen Stickstoffwerth von dem nach Kjeldahl gefundenen ab, so erfährt man die Menge Stickstoff, welche in Form von Aminosäuren (bezw. von Aminosäureverbindungen wie z. B. Hippursäure) in 5 ccm Harn enthalten ist.

Pfaundler[1]) bewirkt die Zerstörung der im Phosphorwolframsäurefiltrat neben den Aminosäuren vorhandenen stickstoffhaltigen Bestandtheile durch 18—20 stündiges Erhitzen mit krystallisirter Phosphorsäure auf 150°.

Nachweis und Bestimmung von Putrescin und Cadaverin im Harne.

525. Für diese Zwecke dient die § 169 angegebene Methode von v. Udránszky und Baumann. Dieselbe liefert bei Verdünnungen, welche 1 : 10000 nicht überschreiten, eine nahezu quantitative Ausbeute.

Nachweis und annähernde Bestimmung der Gallensäuren im Harne.

526. Dem Nachweis der Gallensäuren, welche auch bei hochgradigem Icterus in nur sehr geringer Menge vorkommen, muss eine Isolirung vorangehen, welche nach den S. 272 gemachten Angaben vorgenommen wird. Den dabei erhaltenen harzigen Niederschlag löst man in Wasser und prüft die wässrige Lösung mit Hülfe der Pettenkofer'schen Reaction (§ 236, 3) und auf Rechtsdrehung. Bei nicht zu geringer Menge kann auch auf Glyko- und Taurocholsäure und Cholsäure in der dort angegebenen Weise geprüft werden. Nachweis der Gallensäuren.

Verfahren zum directen Nachweis der Gallensäuren im Harne sind von Strassburg[2]) und von v. Udránszky[3]) angegeben worden, doch werden dieselben nur in den seltensten Fällen zum Ziele führen. Strassburg empfiehlt ein Stück Filtrirpapier in den zu untersuchenden Harn, in dem ein wenig Rohrzucker aufgelöst worden ist, zu tauchen und auf das wieder getrocknete Papier einen Tropfen reiner conc. Schwefelsäure zu bringen. Eine nach ungefähr $^{1}/_{4}$ Minute entstehende, besonders im auffallenden Lichte gut erkennbare, schön violette Färbung zeigt Gallensäure an. v. Udránszky verdünnt 1 Tropfen Harn mit 1 ccm Wasser, fügt 1 Tropfen Furfurolwasser und 1 ccm conc. Schwefelsäure hinzu: kirschrothe Färbung.

---

*) Ist mit der Anwesenheit von Cystin zu rechnen, so macht man mit Natronlauge annähernd neutral und fügt einen grossen Ueberschuss von Magnesia usta hinzu.

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **30**. 75. (1900.)

2) Arch. f. d. ges. Physiol. **4**. 461. (1871.)

3) Zeitschr. f. physiol. Chem. **12**. 373. (1888.)

Annähernde Bestimmung der Gallensäuren.

Um die Gallensäuren annähernd quantitativ zu bestimmen, nimmt man die Isolirung aus einer gemessenen Menge Harn (mindestens 400 ccm) vor, entfärbt die alkoholische Lösung des harzigen Rückstandes nöthigenfalls durch etwas Thierkohle, engt auf ein kleines Volumen ein, misst dasselbe und bestimmt die Drehung im Polarisationsapparat. Die specifische Drehung des glykocholsauren bezw. taurocholsauren Natrons in alkoholischer Lösung beträgt $+25{,}7^0$ bezw. $+24{,}5^0$ (§ 32).

Nachweis und Bestimmung der Homogentisinsäure im Harne bei Alkaptonurie.

527. Zeigt ein Harn die Eigenschaften, beim Stehen an der Luft, besonders auf Alkalizusatz, sich dunkler zu färben und alkalische Kupferlösung zu reduciren, so ist die Anwesenheit von Homogentisinsäure wahrscheinlich. Zum Nachweis isolirt man die Säure nach § 207.

Bestimmung der Homogentisinsäure.

Für die quantitative Bestimmung dient das Verfahren von Baumann[1]): 10 ccm des Alkaptonharns werden in einem Kölbchen mit 10 ccm Ammoniak von 3 pCt. versetzt. Zu dieser Mischung lässt man unverzüglich einige Cubikcentimeter $^n/_{10}$ Silberlösung hinzufliessen, schüttelt einmal um und lässt 5 Minuten stehen. Alsdann werden der Mischung 5 Tropfen Chlorcalciumlösung (1 : 10) und 10 Tropfen Ammoniumcarbonatlösung hinzugefügt. Nach dem Umschütteln wird filtrirt. Das bräunlich gefärbte, aber immer ganz klare Filtrat wird mit Silbernitrat geprüft; tritt dabei sofort wieder eine starke Abscheidung von Silber ein, so wird bei dem zweiten Versuch gleich eine grössere Menge (das doppelte bis dreifache) $^n/_{10}$ Silberlösung zu der Mischung von 10 ccm Harn und 10 ccm Ammoniak hinzugefügt. Kennt man schon annähernd die zur Oxydation erforderliche Menge der Silberlösung, so bedient man sich, um die Endreaction zu erkennen, nur noch der Prüfung mit Salzsäure. Die Nähe der Endreaction giebt sich dadurch zu erkennen, dass die tiefbraune Flüssigkeit auf Zusatz von Salzsäure eine lichtrothe Farbe bekommt. Die Endreaction ist erreicht, wenn das Filtrat vom Silberniederschlag beim Ansäuern mit verdünnter Salzsäure eine eben noch sichtbare Trübung von Chlorsilber liefert. Man findet diesen Punkt sehr scharf durch 4 bis 6 malige Wiederholung des Versuchs. Sind mehr als 8 ccm $^n/_{10}$ Silberlösung auf 10 ccm Harn und 10 ccm Ammoniak erforderlich, so sind bei der Wiederholung des Versuches 20 ccm (statt 10 ccm) Ammoniak zu verwenden. 1 g wasserfreie Homogentisinsäure reducirt unter den angegebenen Bedingungen eine Quantität Silberlösung, welche 2,60—2,65 g Silber enthält, d. h. 240—245 ccm der $^n/_{10}$ Silberlösung; darnach werden durch 1 ccm $^n/_{10}$ Silberlösung 0,004124 g Homogentisinsäure angezeigt.

Ueber die Nachweise der übrigen § 454 aufgeführten Bestandtheile des Harns siehe die 2. Abtheilung dieses Buches.

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **16.** 270. (1892.)

Harnsedimente, Harnsteine, Nierensteine.

Allgemeines.

528. Harnsedimente, Harnsteine, Nierensteine können organisirte und nicht organisirte Körper enthalten. Auf die organisirten Theile derselben, Blutkörperchen, Eiterkörperchen, Cylinder, Mikroorganismen u. s. w., die durch ihre mikroskopischen Formen zu erkennen sind, kann hier nicht Rücksicht genommen werden, aber auch die chemischen Ausscheidungen im Harne bieten schon grosse Mannigfaltigkeit. Von anorganischen Körpern sind besonders phosphorsaurer Kalk, phosphorsaure Ammoniak-Magnesia häufig; von organischen Oxalsäure, Harnsäure, erstere stets als Kalksalz, letztere frei oder an Kali, Natron, Ammoniak, Kalk gebunden; seltener erscheinen bei Menschen phosphorsaures Eisen, kohlensaurer Kalk, Xanthin, Cystin, Fette. Schwefelsaurer Kalk[1]) wurde einmal, Tyrosin äusserst selten als Sediment im menschlichen Harne gefunden.

Bei Pflanzenfressern tritt kohlensaurer Kalk häufig als Harnsediment, auch in Blasensteinen auf; oxalsaurer Kalk ist im Pferdeharn sehr häufig als Sediment gefunden worden, und bildet zuweilen grosse, krystallinische Concremente bei Schweinen. Concremente von phosphorsaurer Ammoniak-Magnesia und phosphorsaurem Kalke sind bei Thieren nicht selten beobachtet worden, mehrmals bei Schafen auch kieselsäurereiche Steine.

Harnsteine. Nach dem Material, aus dem die Steine hauptsächlich oder ausschliesslich zusammengesetzt sind, unterscheidet man Phosphatsteine, Oxalatsteine u. s. w. Die Phosphatsteine besitzen eine weisse Farbe und rauhe Oberfläche und blättern leicht ab. Die Oxalatsteine sind hart, die kleinen glatt und weiss, die grösseren höckerig (Maulbeersteine) und in Folge von Blutungen häufig oberflächlich dunkelbraun gefärbt. Die Uratsteine besitzen gleichfalls grosse Härte, gelbliche bis rothbraune Farbe und glatte oder höckerige Oberfläche. Die Cystinsteine sind weiss bis gelblichweiss, wenig hart, auf der Bruchfläche krystallinisch. Die Xanthinsteine meist gelbbraun von amorpher Structur, beim Reiben Wachsglanz annehmend. In der Regel bestehen indessen die Steine aus mehreren Substanzen, die oft schichtenweise übereinander gelagert sind (z. B. abwechselnd Phosphate und Urate). Nur die selten vorkommenden Cystin- und Xanthinsteine sind häufig frei von fremden Beimengungen; auch Steine, die fast ausschliesslich aus Calciumoxalat bestehen, werden häufiger beobachtet. Desgleichen bestehen die sehr selten vorkommenden Cholesterin- und Fettconcremente in der Hauptsache nur aus Cholesterin bezw. Fett und Fettsäuren.

Mikroskopische Untersuchung der Harnsedimente.

529. Man lässt den zu prüfenden trüben Harn in einem reinen Gefässe, am besten einem Spitzglase, einige Minuten bis Stunden an einem kühlen Orte stehen. Enthält er nur Fette, so kommt es nicht zur Bildung

---

1) Valentiner, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1863. S. 913.

eines Niederschlags (ein durch Fett trüber Harn klärt sich beim Schütteln mit Aether), in allen andern Fällen werden sich bald die Sedimente am Boden abgesetzt haben, so dass man den grössten Theil der überstehenden Flüssigkeit klar abgiessen kann. Von dem Rest der Flüssigkeit, welcher das Sediment enthält, nimmt man mit einer kleinen Pipette eine Probe heraus, bringt einen Tropfen auf den Objectträger und untersucht nach Auflegung eines Deckglases mit dem Mikroskope bei 200—300facher Vergrösserung.

530. **Mikroskopische Formen.**

a) Farblose Krystalle können bestehen aus phosphorsaurem Kalk, schwefelsaurem Kalk, phosphorsaurer Ammoniak-Magnesia, oxalsaurem Kalk, Cystin, Xanthin, Tyrosin. Schwefelsaurer Kalk und Tyrosin bilden feine Nadeln, phosphorsaurer Kalk rhombische Prismen, Cystin sechsseitige oder rhombische, Xanthin sechsseitige Tafeln, oxalsaurer Kalk tetragonale Octaëder (Briefcouvertform), phosphorsaure Ammoniak-Magnesia drei- oder vier- oder sechsseitige grosse Prismen mit schrägen Endflächen. Wenn die Prismen kurz sind, ähneln diese Tripelphosphatkrystalle den Octaëdern des oxalsauren Kalks, meist erscheint das Salz in der sogenannten Sargdeckelform (dreiseitiges Prisma, auf dessen einer Kante eine Fläche in gleicher Zone aufgesetzt ist und mit zwei gegen einander stark geneigten, schrägen Endflächen).

b) Farblose Kugeln, rundliche Knollen oder Dumbbells können aus kohlensaurem oder oxalsaurem Kalk bestehen.

c) Gelbe, rothe oder braune Krystalle sind stets Harnsäure.

d) Gelbe oder röthlich braune Kugeln, Knollen, Stechapfel- oder Morgensternformen bilden harnsaure Salze, doch ist ihre Färbung in alkalischen Harnen oft kaum bemerkbar.

e) Feine Körnchen von nicht bestimmbarer Form können aus phosphorsaurem Kalk, harnsauren Salzen, Xanthin bestehen.

531. **Verhalten gegen Reagentien unter dem Mikroskop.**

a) Gegen Essigsäure. Giebt man einen Tropfen starker Essigsäure unter das Deckglas, so werden gelöst: Phosphorsaurer Kalk, kohlensaurer Kalk (meist mit erkennbarer Gasentwicklung), phosphorsaure Ammoniak-Magnesia; nicht gelöst: Schwefelsaurer Kalk, oxalsaurer Kalk, Harnsäure, Xanthin, Cystin. Harnsaure Salze wandeln sich unter vorausgehender theilweiser oder völliger Lösung durch die Essigsäure in Krystalle von Harnsäure um. Man lässt die Probe für diesen Zweck mehrere Stunden stehen und prüft dann, ob sich gefärbte Harnsäurekrystalle abgeschieden haben.

b) Gegen Salzsäure. Wurden die Krystalle durch Essigsäure nicht gelöst, so lässt man zu einer andern Probe einen Tropfen Salzsäure fliessen. Ungelöst bleibt dann nur Harnsäure und schwefelsaurer Kalk.

c) Gegen Wasser. Schwefelsaurer Kalk löst sich in viel Wasser auf, aber auch Tyrosin, Xanthin, Harnsäure und harnsaure Salze, selbst phosphorsaure Ammoniak-Magnesia sind nicht völlig unlöslich in Wasser.

d) Gegen Ammoniak. Durch einen Tropfen Ammoniak werden phosphorsaurer Kalk, schwefelsaurer Kalk, oxalsaurer Kalk, harnsaure Salze nicht verändert; Tyrosin, Cystin, Xanthin lösen sich leicht auf; Krystalle von freier Harnsäure werden allmählich oberflächlich arrodirt und mit Körnchen besetzt.

Kurze Charakterisirung der in Sedimenten und Steinen gefundenen Verbindungen.

532. Neutrales Calciumphosphat $Ca_3(PO_4)_2$ kann im alkalischen, neutralen oder sehr schwach sauren Harne als Sediment auftreten, im alkalischen ist es stets als Sediment enthalten und im zersetzten Harne stets mit phosphorsaurer Ammoniak-Magnesia, oft auch mit harnsauren Salzen gemengt. Die Unlöslichkeit in Ammoniak unterscheidet es von Xanthin, die Löslichkeit in Säuren ohne nachherige Ausscheidung von Krystallen sowie die Unlöslichkeit in warmem Wasser von harnsauren Salzen.

Saures Calciumphosphat $CaHPO_4 + 2 H_2O$ wird zuweilen als rhombische Tafeln in stark saurem Harne gefunden. Wegen seiner Krystallform könnte es nur mit Harnsäure oder phosphorsaurer Ammoniak-Magnesia verwechselt werden. Die Löslichkeit in Säuren unterscheidet es von Harnsäure und sein Vorkommen im scharf sauren Harne lässt keine Verwechselung mit dem Ammoniummagnesiumphosphat zu, da dies nur im alkalischen Harne erscheint.

Calciumcarbonat ist hinreichend charakterisirt, wenn sich ein körnig kugeliges Sediment mit Aufbrausen in Säuren löst.

Calciumsulfat, dem Tyrosin in der Krystallform ähnlich, unterscheidet sich durch die Schwerlöslichkeit in Ammoniak sowie durch Feuerbeständigkeit von diesem.

Ammoniummagnesiumphosphat kommt nur im alkalischen Harne vor, ist stets gut krystallisirt, in Essigsäure leicht löslich und deshalb mit keinem anderen hier in Betracht kommenden Körper zu verwechseln. Die Krystalle sind stets farblos, auch im icterischen Harne.

Magnesiumphosphat $Mg_3(PO_4)_2 + 22 H_2O$ wurde in alkalischem concentrirten Harne als cholesterinähnliche Tafeln gefunden. Zur Unterscheidung dieses Salzes, des Ammoniummagnesiumphosphats und Calciumphosphats empfehlen Tollens und Stein[1]) eine 20proc. wässerige Lösung von käuflichem Ammoniumcarbonat. Die Ammoniummagnesiumverbindung bleibt darin unverändert, die Magnesiumphosphatkrystalle werden rauh und zerfressen, Calciumphosphat verwandelt sich in Kügelchen, die am Glase haften.

Calciumoxalat, in seinen ausgebildeten Krystallen nur mit phosphorsaurer Ammoniak-Magnesia zu verwechseln, unterscheidet sich von

---

[1]) Ann. Chem. Pharm. **187**. 79. (1877.)

diesem Salze durch die Unlöslichkeit in Essigsäure. Wenn es in Kugeln und Dumbbells den harnsauren Salzen und dem kohlensauren Kalke ähnlich erscheint, ist gleichfalls die Unveränderlichkeit in Essigsäure und Unlöslichkeit in warmem Wasser für dieses Salz charakteristisch (§ 75).

Harnsäure bildet meist rhombische Tafeln; ihre gelbe bis braune Färbung, Unlöslichkeit in Salzsäure und in Ammoniak unterscheiden sie von allen anderen hier wichtigen Körpern. Ueber Reactionen siehe § 123.

Urate unterscheiden sich von den meisten anderen erwähnten Bestandtheilen der Sedimente dadurch, dass sie sich beim Erwärmen mit dem Harne auf Bluttemperatur leicht auflösen, nur das Tyrosin löst sich auch und noch leichter in heissem Wasser, unterscheidet sich aber durch seine Krystallform. Nach Heintz enthalten die harnsauren Salze als Sedimente im Harne Kalk oder Kali, wenn sie feinkörnig erscheinen[1]).

Xanthin ist in Ammoniak löslich, schwerer in Salzsäure, noch schwerer in heissem Wasser. Beim Verdunsten der ammoniakalischen Lösung krystallisirt es wieder aus. Ueber Reactionen siehe § 125.

Cystin, stets in den § 530 geschilderten Krystallen sich darstellend, ist unlöslich in heissem Wasser, löslich in Mineralsäuren, leicht löslich in Ammoniak und krystallisirt ebenfalls beim Verdunsten der ammoniakalischen Lösung wieder aus. Ueber Reactionen siehe § 160.

Tyrosin löst sich leicht in Säuren und Ammoniak und krystallisirt in Nadeln. Ueber Reactionen siehe § 205.

Enthalten die Sedimente mehrere Körper gemengt, deren Unterscheidung im Gemenge nicht mit Sicherheit gelingt, und ist genügendes Material vorhanden, so untersucht man sie nach § 534.

Qualitative Analyse der Sedimente*) und Concremente.

533. **Vorprobe.** Man erhitzt eine kleine Probe der Substanz vorsichtig auf dem Platinblech. Tritt dabei keine Dunkelfärbung ein, so geschieht die Untersuchung nach 1; verbrennt die Substanz völlig unter Hinterlassung keines oder eines ganz geringen Rückstandes, so untersucht man nach 2; färbt sich die Substanz dunkler, und hinterbleibt nach völligem Verbrennen der Kohle ein Ascherückstand, so verfährt man nach 3.

534. **Ausführung der Untersuchung.**

1. Die Substanz besteht nach der Vorprobe nur aus anorganischen Bestandtheilen.

Man stellt zunächst einen wässrigen und darauf einen salzsauren Auszug einer grösseren Menge des fein zerriebenen Materials her und untersucht diese beiden Auszüge nach den §§ 431 u. 432.

---

*) Das nach § 529 gewonnene Sediment wird abfiltrirt und mit verdünntem Alkohol ein wenig gewaschen.

[1]) Bence Jones, Chem. Centralbl. 1862. S. 316. Heintz, Ebendas. 1863. S. 524.

2. Die Substanz besteht nach der Vorprobe nur oder fast nur aus organischen Bestandtheilen.

Es kann sich handeln um Cystin, Xanthin, Tyrosin, Harnsäure oder harnsaures Ammoniak. Wegen des Nachweises dieser Stoffe siehe § 532, wegen des Nachweises des Ammoniaks siehe unten (3 *A* a).

3. Die Substanz besteht nach der Vorprobe aus organischen und anorganischen Bestandtheilen.

Eine grössere Menge des Sediments oder Concrements wird in einem kleinen Mörser möglichst fein zerrieben, mit kochendem Wasser einige Zeit digerirt, heiss filtrirt und mit heissem Wasser ausgewaschen. Das Filtrat wird nach *A*, der Rückstand nach *B* untersucht.

A. Das Filtrat, welches harnsaures Alkali und kleine Mengen von freier Harnsäure, phosphorsaurer Ammoniak-Magnesia, schwefelsaurem Kalk, sowie auch Tyrosin*) enthalten kann, wird in einer Porzellanschale auf dem Wasserbade bis zu kleinem Volumen eingedampft**), mit Salzsäure versetzt (gleichgültig, ob sich Niederschläge gebildet haben oder nicht) und einige Stunden stehen gelassen***). Die krystallinischen Abscheidungen bestehen aus Harnsäure†) (Prüfung mit der Murexidprobe S. 140, 2). Die filtrirte Flüssigkeit theilt man in zwei Theile und untersucht den einen nach a, den andern nach b. Urate.

a) Der eine Theil wird auf Ammoniak geprüft. Man benutzt dazu einen kleinen Uhrglasapparat bestehend aus 2, ihre concaven Seiten einanderzukehrenden, auf einander passenden Uhrgläsern, die durch eine übergeschobene Klemme fest zusammengehalten werden. In dem oberen Uhrglas breitet man mit Hülfe eines Tröpfchens Wasser einen rothen Lacmuspapierstreifen aus, in das untere giesst man die zu untersuchende Flüssigkeit, fügt Natronlauge bis zur stark alkalischen Reaction hinzu, legt das obere Uhrglas drauf und schiebt die Klemme über. Eine nach einiger Zeit auftretende Blaufärbung des Lacmuspapiers zeigt die Anwesenheit von Ammoniak (§ 52) an. Ammoniak.

Statt dessen kann man auch die salzsaure Lösung mit Platinchlorid versetzen und den sofort oder nach einigem Stehen entstandenen gelben Niederschlag nach § 474 auf Platinsalmiak prüfen.

---

*) Tyrosin ist nie in Concrementen und nur äusserst selten als weiches Sediment gefunden worden.

**) Hat sich während des Abdampfens kein Niederschlag gebildet, so erhitzt man eine kleine Probe auf einem Platinblech und prüft, ob durch Verkohlung und Ascherückstand überhaupt gelöste Substanz nachweisbar ist. Wenn das nicht der Fall ist, fällt natürlich die Untersuchung des wässrigen Auszugs fort.

***) Hier sowie in den weiterhin angegebenen Fällen ist es zweckmässig, 24 Stunden stehen zu lassen; doch ist kürzere Zeit hinreichend, wenn es sich nicht um Spuren von Harnsäure handelt.

†) Findet sie sich reichlich, so ist das Sediment oder Concrement reich an harnsauren Alkalien; denn die freie Harnsäure löst sich auch in heissem Wasser nur schwer.

b) Der andere Theil der salzsauren Lösung wird im Wasserbade zur Trockne verdunstet und der Rückstand mit etwas Ammoniak extrahirt.

α) Die ammoniakalische Lösung, welche Chloralkalien und Tyrosin enthalten kann, wird verdunstet. Während sich etwa vorhandenes Tyrosin dabei krystallinisch abscheidet und nach S. 234 erkannt werden kann, prüft man den Rückstand mit dem Spectralapparat auf Kalium (§ 37) und Natrium (§ 38).

Tyrosin. Kalium. Natrium.

β) Der etwa von Ammoniak nicht gelöste Rückstand, welcher aus schwefelsaurem Kalk und phosphorsaurer Ammoniak-Magnesia bestehen kann, wird zur Hälfte in Salzsäure gelöst und mit Chlorbarium auf Schwefelsäure (§ 49) geprüft. Die andere Hälfte untersucht man in salpetersaurer Lösung mit molybdaensaurem Ammoniak auf Phosphorsäure (§ 50).

Calciumsulfat. Phosphorsaure Ammoniak-Magnesia.

B. Der in heissem Wasser unlösliche Rückstand wird in einem Becherglase mit verdünnter Salzsäure übergossen. Aufbrausen zeigt Kohlensäure (§ 107) an. Man lässt kurze Zeit stehen, filtrirt, wäscht mit Wasser aus und untersucht die Lösung nach 1, den Rückstand nach 2.

Carbonate.

1. Die salzsaure Lösung, welche Kalk, Magnesia, Eisen, Ammoniak, Phosphorsäure, Oxalsäure, Cystin, Spuren von Schleim und Albuminstoffen enthalten kann, wird in zwei ungleiche Theile a und b getheilt.

a) Der kleinere Theil wird im Wasserbade möglichst concentrirt, wenn nöthig filtrirt und das Filtrat, wie oben unter A a angegeben, auf Ammoniak geprüft (ursprünglich Ammonurat, Magnesiumammonphosphat).

Ammoniak.

b) Der grössere Theil wird mit kohlensäurefreiem Ammoniak bis zur stark alkalischen Reaction versetzt, bedeckt kurze Zeit stehen gelassen und ein entstandener Niederschlag schnell unter möglichstem Abschluss der Luft filtrirt und mit ausgekochtem Wasser und etwas Ammoniak ausgewaschen.

Die Untersuchung des Filtrats geschieht nach α, die des Niederschlags nach β.

α) Die Hauptmenge des Filtrats wird mit oxalsaurem Ammoniak auf Kalk (§ 39) und nach Abfiltriren des Calciumoxalats mit Natriumphosphat auf Magnesia (§ 40) geprüft. Calcium und Magnesium waren im Sediment oder Concrement an Kohlensäure gebunden. Den Rest der ammoniakalischen Lösung prüft man nach § 160 auf Cystin.

Calciumcarbonat. Magnesiumcarbonat. Cystin.

β) Der Niederschlag wird mit der Spritzflasche in ein Becherglas gespült, mit überschüssiger Essigsäure versetzt und erwärmt. Löst sich nicht Alles auf, so filtrirt man, wäscht mit Wasser und prüft den Filterrückstand nach $\alpha\alpha$, das Filtrat nach $\beta\beta$. Entsteht eine klare Lösung, so wird diese nach $\beta\beta$ untersucht.

$\alpha\alpha$) Der Niederschlag wird in einen Porzellantiegel gespült, im Wasserbade getrocknet, geglüht und nach dem Erkalten mit Essigsäure übergossen. Findet völlige oder theilweise Lösung unter Aufbrausen statt und giebt die nöthigenfalls filtrirte essigsaure Lösung mit Ammonoxalat

einen weissen Niederschlag, so war im Untersuchungsmaterial oxalsaurer Kalk enthalten. Den durch Essigsäure nicht gelösten Glührückstand löst man in wenig Salzsäure, verdünnt mit Wasser und prüft mit Ferrocyan- oder Rhodankalium auf Eisen. Ein positiver Ausfall der Reaction beweist die Anwesenheit von phosphorsaurem Eisenoxyd (§ 41) im Untersuchungsmaterial. Calciumoxalat. Ferriphosphat.

$\beta\beta$) Die essigsaure Lösung wird mit Ammonoxalat versetzt. Ein entstehender Niederschlag zeigt die Gegenwart von phosphorsaurem Kalk an. Nach völliger Ausfällung der Lösung mit Ammonoxalat und Erhitzen filtrirt man ab und macht das Filtrat mit Ammoniak alkalisch. Ein beim Stehen oder schneller beim Reiben der Glaswand mit einem Glasstabe entstehender Niederschlag zeigt an, dass das Untersuchungsmaterial Magnesia an Phosphorsäure gebunden enthielt. Calciumphosphat. Magnesiumphosphat.

Es bleibt unentschieden, ob phosphorsaure Magnesia oder phosphorsaure Ammoniak-Magnesia im Sediment oder Concrement vorhanden war. Letztere Verbindung ist auszuschliessen, wenn in B 1 a kein Ammoniak gefunden worden ist.

2. Die in Salzsäure unlöslichen Stoffe können nur aus Harnsäure, Xanthin, Schleim, Detritus von Epithelzellen und andern organisirten Stoffen, sowie aus Kieselsäure bestehen. Harnsäure und Xanthin trennt man durch Ammoniak und prüft das Ungelöste mit der Murexidprobe (S. 140, 2) auf Harnsäure, den Rückstand der ammoniakalischen Lösung nach S. 126 auf Xanthin. Beim Veraschen des durch Ammoniak nicht gelösten Rückstandes erhält man die Kieselsäure (§ 51). Harnsäure. Xanthin. Kieselsäure.

Kleine Concretionen in der Substanz der Niere, besonders in den Spitzen der Pyramiden, in den kleinen Gefässen und disseminirt in den Schleimhäuten u. s. w. werden mikroskopisch (vergl. §531) auf ihr Verhalten gegen Essigsäure, Salzsäure, Natronlauge, Ammoniak, schwache Jodlösung und Schwefelsäure nebst Jodlösung geprüft. Die in den Spitzen der Pyramiden so häufigen Infarcte phosphorsaurer Erden lösen sich in Essigsäure sehr langsam, viel schneller in Salzsäure unter Hinterlassung von etwas meist unregelmässig geformter organischer Substanz. Harnsaure Salze scheinen sich in Säuren zunächst meist völlig zu lösen, geben aber dann beim Stehen Krystalle von Harnsäure (Bestätigung durch Murexidprobe, Löslichkeit in Natronlauge, Unlöslichkeit in Ammoniak); phosphorsaure Erden lösen sich nicht in Natronlauge oder Ammoniak, dagegen lösen sich abgelagerte Farbstoffe in diesen Flüssigkeiten. Amyloïd giebt sich durch sein Verhalten zu Jod zu erkennen (§ 406).

Quantitative Analyse der Sedimente und Concremente.

535. Dieselbe würde sehr mühsam sein, wenn wirklich alle Stoffe, auf welche bei der qualitativen Untersuchung (§ 534) Rücksicht genommen worden ist, jemals neben einander in demselben Sediment oder Concrement vorkämen. Dieses scheint aber nie der Fall zu sein und die Analyse vereinfacht sich daher bedeutend. Calciumsulfat, Tyrosin, Xanthin, Cystin, Cholesterin und Fett kommen in Sedimenten und Steinen so selten vor und dann gewöhnlich so frei von andern Beimengungen, dass auf ihre Be-

stimmung bei der folgenden Beschreibung nicht Rücksicht genommen zu werden braucht.

Von dem möglichst fein pulverisirten und bei 100° im Luftbade oder besser (um das Entweichen von Ammoniak aus etwa vorhandener phosphorsaurer Ammoniak-Magnesia zu vermeiden) in der § 465 beschriebenen Weise getrockneten Material werden 3 Portionen abgewogen und nach 1, 2 und 3 untersucht. Die Analyse der ersten Portion geschieht im Wesentlichen nach dem im § 534 angegebenen Gange, aber ohne Berücksichtigung von Ammoniak und Kohlensäure, für deren Bestimmung die Portionen 2 und 3 dienen.

1. Das trockne, abgewogene Pulver (1—2 g) wird mit heissem Wasser übergossen, einige Zeit mit Wasser gekocht, heiss filtrirt und mit heissem Wasser nachgewaschen.

a) Das Filtrat (+ Waschwasser) wird eingeengt und mit Salzsäure stark sauer gemacht. Nach 12 stündigem Stehen sammelt man die ausgeschiedene Harnsäure auf gewogenem Filter, wäscht mit kaltem Wasser nach, trocknet bei 120°, wägt wieder und erfährt so das Gewicht der Harnsäure. Das Filtrat wird stark eingeengt, in einem Becherglase mit Ammoniak stark alkalisch gemacht und die abgeschiedene phosphorsaure Ammoniak-Magnesia nach einigen Stunden auf kleinem, aschefreiem Filter gesammelt, mit verdünntem Ammoniak gewaschen und weiter nach § 434, b behandelt. Durch Rechnung findet man die dem gefundenen Magnesiumpyrophosphat entsprechende Menge phosphorsaure Ammoniak-Magnesia. Das Filtrat wird wieder eingeengt, in einen gewogenen Porzellantiegel gebracht, zur Trockne verdunstet, bis zur Verjagung des Chlorammoniums schwach geglüht und nach dem Erkalten gewogen. Man erfährt so die Quantität Alkali (als Chloralkali), welche an Harnsäure gebunden war. Ueber die Trennung von Kalium und Natrium siehe § 433.

b) Die in kochendem Wasser unlöslichen Bestandtheile werden in einem Becherglase mit verdünnter Salzsäure behandelt und 12 Stunden stehen gelassen.

α) Die ausgeschiedene Harnsäure wird auf gewogenem, aschefreiem Filter gesammelt, mit kaltem Wasser gewaschen und bei 120° getrocknet. Nachdem das Gewicht festgestellt, verascht man, zieht die gefundene Aschemenge ab und erfährt so das Gewicht der Harnsäure. Die Asche wird in Salzsäure gelöst und dem salzsauren Filtrat (*β*) zugefügt.

β) Die Untersuchung des salzsauren Filtrats (event. + Aschelösung siehe *α*) geschieht in der § 534, B 1 beschriebenen Weise unter Benutzung der in §§ 433 ff gegebenen Einzelvorschriften. Enthält der in Essigsäure unlösliche Niederschlag *αα* (S. 466) Calciumoxalat und Ferriphosphat nebeneinander, so kann man zweckmässig in folgender Weise verfahren: Der Niederschlag wird geglüht, mit etwas Ammoncarbonat versetzt, um beim Glühen ausgetriebene Kohlensäure zu ersetzen, wieder bis zur schwachen

Rothgluth erhitzt und gewogen. Man behandelt den Glührückstand, welcher jetzt statt des Calciumoxalats kohlensauren Kalk enthält, mit Essigsäure, filtrirt durch ein aschefreies Filter, wäscht mit Wasser aus, glüht, wägt und erfährt so das Gewicht des Ferriphosphats. Durch Subtraction dieses Werthes von dem vorher erhaltenen erfährt man die Menge Calciumcarbonat, aus der durch Rechnung die entsprechende Menge Calciumoxalat gefunden wird.

2. Die zweite Portion des trocknen Pulvers dient zur Bestimmung des Kohlensäuregehaltes nach § 450.

3. In einer dritten Portion ermittelt man die Menge des Ammoniaks. Das trockne abgewogene Pulver wird mit verdünnter Salzsäure erwärmt und bei Anwesenheit von Harnsäure nach 12 stündigem Stehen filtrirt. Im Filtrat (+ Waschwasser) bestimmt man die Menge des Ammoniaks nach Schlösing (§ 475).

2. Untersuchung von serösen Flüssigkeiten, Cystenflüssigkeiten Synovia u. s. w.

Allgemeines.

536. Das Blutplasma, das Blutserum, die Lymphe, die Transsudate (Pericardial-, Peritoneal-, Pleuraflüssigkeit, Hydroceleflüssigkeit u. s. w.), die Amniosflüssigkeit, die Cystenflüssigkeiten, die Synovia können im Allgemeinen nach denselben Verfahren untersucht werden.

Die Transsudate, welche durch Filtration aus dem Blutplasma hervorgegangen sind, stimmen in ihrer Zusammensetzung qualitativ im Wesentlichen mit diesem überein. Die Veränderungen, welche sie secundär durch Beimengung von Producten der Zellthätigkeit, von Blut, durch proteolytische Processe u. s. w. erfahren können, kommen für den Gang der Untersuchung nicht in Betracht. Die Amniosflüssigkeit und die Flüssigkeiten der serösen Cysten schliessen sich den Transsudaten an. Der Inhalt mancher anderer Cysten, z. B. vieler Ovarialcysten, sowie die Synovia, zeigen zwar grössere Abweichungen in der Zusammensetzung, doch lassen sich in den meisten Fällen dieselben Untersuchungsmethoden auf sie anwenden.

537. **Bestandtheile.** Alle diese Flüssigkeiten enthalten Proteïnstoffe u. z. mehrere aber in sehr verschiedener Menge. Während sie im Blutserum 7—8 pCt. beträgt, schwankt sie in den Transsudaten von 0,1 pCt. und noch weniger (in der Cerebrospinalflüssigkeit) bis zu 6 pCt., in der Synovia von 2—4 pCt., in den Cystenflüssigkeiten (abgesehen von den serösen Cysten) von 5—10 pCt. Alle enthalten kleine Mengen von sogen. Extractivstoffen, unter ihnen ist wohl regelmässig Harnstoff in Spuren (reichlicher bei Urämie) gefunden worden, meist auch Traubenzucker, ferner häufig Kreatin, Harnsäure, Milchsäure, Inosit, gelegentlich auch Bernstein-

säure, Allantoïn, unter pathologischen Verhältnissen auch Leucin und Tyrosin (acute gelbe Leberatrophie), Gallensäuren und Gallenfarbstoffe (Icterus), Blutfarbstoffe und deren Umwandlungsproducte u. s. w. Fette, Lecithin, Cholesterin sind ebenfalls stets vorhanden, desgleichen anorganische Salze, unter ihnen hauptsächlich Chlornatrium, ferner Natriumcarbonat, an Phosphorsäure gebundene alkalische Erden und Alkalien.

538. **Allgemeine Eigenschaften.** Das spec. Gewicht, welches beim Blutserum im Mittel 1028 beträgt, kann bei den verschiedenen hier in Betracht kommenden Flüssigkeiten zwischen 1005 und 1030 schwanken und ist im Wesentlichen von dem Eiweissgehalt abhängig. Ueber die Bestimmung siehe § 22.

Die Reaction ist gegen Lacmus meist schwach alkalisch.

Die Farbe ist, wenn kein Blut beigemengt ist, ein blasses oder gesättigteres Gelb oder gelbliches Grün. Beim Stehen an der Luft trüben sich die Flüssigkeiten und die Farbe nimmt einen mehr grünlichen Ton an. Hydroceleflüssigkeiten haben oft von vornherein eine dunklere, grünliche Färbung. Beimengung von Blut kann eine dunkle, chokoladenbraune Farbe verursachen.

Die Consistenz ist in den meisten Fällen eine dünnflüssige, in andern in Folge von Gehalt an Mucin oder Mukoïden eine zähe, so dass die Flüssigkeit beim Ausgiessen lange Fäden zieht, oder auch eine derb gallertige. Manche der Flüssigkeiten gerinnen spontan, andere erst auf Zusatz von etwas Blut oder Serum.

539. Klarheit. Häufig sind die Flüssigkeiten ganz klar durchsichtig, zeigen aber fast stets sehr deutlich weissliche Fluorescenz. Oft findet man sie durch rothe Blutkörperchen und deren Umwandlungsproducte, durch Leukocyten, Epithelzellen, Fibrinausscheidungen, Cholesterinkrystalle oder durch feinste Fetttröpfchen getrübt. Letztere Beimengung findet sich im Blutserum normalerweise häufig während der Verdauung, ferner bei Diabetikern und Säufern, selten in Transsudaten. Alle diese trübenden Beimengungen und Niederschläge, mit Ausnahme der Blutkörperchen und des feinen Fettstaubes, lassen sich mittelst Filtration durch Papier entfernen. Die Blutkörperchen senken sich beim ruhigen Stehen während eines Tages und können so leicht abgetrennt werden, nur im defibrinirten Blut gelingt dies oft sehr schwer und unvollkommen, besser durch Centrifugiren. Das Fett kann durch Schütteln mit Aether wenigstens grösstentheils entfernt werden. Die Klärung gelingt in allen Fällen vollkommen, wenn man vor dem Schütteln mit Aether etwas Natronlauge zufügt; doch verändert das Natron die Proteïnstoffe.

Die Echinococcenflüssigkeit, welche keine Eiweissstoffe, aber Traubenzucker, Bernsteinsäure, Inosit und viel Chlornatrium enthält, wird ebenfalls wie eine seröse Flüssigkeit untersucht.

Bestimmung des Trockenrückstandes in serösen Flüssigkeiten.

540. In einer gewogenen kleinen Porzellanschale misst oder wägt man 10—30 ccm ab, dampft auf dem Wasserbade ein und trocknet zunächst einige Tage im Vacuum über Schwefelsäure, dann bei 110—120° und zuletzt bei fast 120° bis zum constanten Gewicht. Sind in der Flüssigkeit Harnstoff oder andere in der Hitze leicht zersetzliche Substanzen zu vermuthen, so erhitzt man nicht viel über 110°.

Nachweis und Bestimmung der anorganischen Salze in serösen Flüssigkeiten.

541. Für den Nachweis der anorganischen Bestandtheile ist wegen des Eiweissgehaltes der Flüssigkeiten die vorherige Veraschung unvermeidlich. Die Veraschung würde nach § 426, die Untersuchung des wässrigen und salzsauren Auszuges der Asche nach § 431 und § 432 zu geschehen haben. Indessen ist zu berücksichtigen, dass jedenfalls ein Theil der hierbei nachgewiesenen Schwefelsäure und Phosphorsäure nicht als anorganisches Salz in den Flüssigkeiten vorhanden war, sondern erst während der Veraschung aus dem organisch gebundenen Schwefel der Proteïnstoffe entstanden bezw. aus den Phosphorsäure enthaltenden Lecithinen und phosphorhaltigen Proteïden abgespalten worden ist; ferner dass Kohlensäure und Salzsäure während der Veraschung durch Schwefelsäure und Phosphorsäure ausgetrieben sein können. Die hieraus für die Feststellung der in den Flüssigkeiten präformirt vorhandenen anorganischen Salze sich ergebenden Ungenauigkeiten lassen sich einigermaassen bei Benutzung folgender Methode vermeiden.

Man fällt die Flüssigkeiten mit überschüssigem Alkohol, filtrirt durch ein aschefreies Filter und wäscht zunächst mit heissem Alkohol, dann mit heissem Wasser aus. Es werden auf diese Weise zwei Auszüge (ein alkoholischer und ein wässriger) und ein Filterrückstand erhalten.

Auszüge. Um den alkoholischen Auszug von Lecithin zu befreien, verdunstet man ihn bei mässiger Wärme (nicht über 60°) auf dem Wasserbade, extrahirt den Rückstand mit warmem absolutem Alkohol, dampft das Filtrat wieder bei mässiger Wärme ein und nimmt den Rückstand mit wasser- und alkoholfreiem Aether auf. Derselbe löst das Lecithin, aber keine anorganischen Salze. Die in dem abs. Alkohol und dem Aether unlöslichen Rückstände werden mit dem wässrigen Auszuge vereinigt. Die Flüssigkeit wird eingedampft, getrocknet und nach § 426 verascht; die Untersuchung des wässrigen Aschenauszugs wird nach § 431 vorgenommen.

Sind Taurin oder Taurocholsäure zugegen, so prüft man die wässrige Lösung vor dem Veraschen mit Chlorbarium und Salzsäure auf Schwefelsäure.

Filterrückstand. Derselbe enthält die Proteïnstoffe und Phosphate der alkalischen Erden und event. Eisen und wird besonders verascht (§ 426) und der salzsaure Auszug nach § 432 untersucht. Sind in den Flüssig-

keiten phosphorhaltige Proteïde vorhanden, wie sie z. B. in Transsudaten von Paijkull[1]) nachgewiesen wurden, so wird ein Theil der in der Asche nachgewiesenen Phosphorsäure aus ihnen stammen; indessen ist diese Quantität in allen Fällen eine ausserordentlich geringe, welche gegenüber der als Phosphat vorhandenen nicht in Betracht kommt.

Für die quantitative Bestimmung ergeben sich aus dem Gesagten die nöthigen Anhaltspunkte. Für die quantitativen Einzelbestimmungen kommen die §§ 433 ff. in Betracht.

Qualitative Prüfung auf Proteïnstoffe in serösen Flüssigkeiten.

542. Wohl in allen hierher gehörigen Flüssigkeiten sind Serumalbumin und Serumglobulin*) vorhanden, in einzelnen (Blutplasma, manchen Transsudaten) auch Fibrinogen. Propeptone scheinen nur selten vorzukommen, Peptone ganz zu fehlen. Glykoproteïde und phosphorhaltige Proteïde sind in denjenigen Flüssigkeiten gefunden worden, welche schleimige Beschaffenheit zeigen und beim Umgiessen von einem Gefässe in das andere Fäden ziehen; aber auch in ganz dünnflüssigen Lösungen, in Transsudaten hat man Mukoïde (§ 404) und phosphorhaltige Proteïde (Paijkull) nachgewiesen.

Vorbereitung. Enthält die zu untersuchende Flüssigkeit Trübungen oder Niederschläge, so ist sie zunächst, wenn ihre physikalische Beschaffenheit es zulässt, zu filtriren bezw. von Blutkörperchen durch Absitzenlassen oder von Fett durch Behandeln mit Aether zu befreien (§ 539). Den Filterrückstand oder Bodensatz prüft man mikroskopisch. Im Niederschlage enthaltene Flocken und Fetzen können nach Schlemmen und Waschen mit Wasser gereinigt und auf Fibrin (§ 296) geprüft werden. Glasiges Aufquellen in 0,1 proc. Salzsäure und schnelle Lösung in künstlichem Magensaft (§ 411) sprechen für Fibrin.

543. **Glykoproteïde, phosphorhaltige Proteïde.**

1. Mucine (Mukoïde), phosphorhaltige Proteïde. Man versetzt eine grössere Menge, z. B. 100 ccm (nöthigenfalls nach Verdünnen mit Wasser) mit Essigsäure, filtrirt, wäscht mit essigsäurehaltigem Wasser aus, löst in schwach alkalihaltigem Wasser, wiederholt die Fällung mit Essigsäure und prüft den Niederschlag.

a) Mucine und Mukoïde. Man kocht einen Theil des Niederschlags mit verd. Mineralsäure und stellt mit der Flüssigkeit die Trommer'sche Probe an. Ueber die Unterscheidung der Mucine von Mukoïden siehe § 390.

b) Phosphorhaltige Proteïde. Man kocht einen Theil des Niederschlags mit Alkohol und Aether aus und untersucht ihn nach § 56 auf organisch gebundenen Phosphor. Dabei ist indessen zu bemerken, dass ein ganz schwacher Ausfall der Phosphorsäurereaction in der Schmelze nicht

*) In manchen auch Fibringlobulin (§ 289). [1]) Maly's Jahresber. 1892. S. 558.

berücksichtigt werden darf, da die Entfernung von Phosphaten und Lecithin, welche dem Niederschlag stets beigemengt sind, meist nur unvollkommen gelingt (Salkowski).

War organisch gebundener Phosphor nachgewiesen, so löst man einen weiteren Theil des Niederschlags in Natronlauge, fügt Salzsäure hinzu, kocht bis zur klaren Lösung, übersättigt mit Ammoniak und versetzt mit Silbernitrat. Eine flockige Fällung (Silberverbindungen der Nucleïnbasen) zeigt Nucleoproteïd (§ 369) an. Bei negativem Ausfall dieser Reaction giebt organisch gebundener Phosphor die Anwesenheit von Paranucleoproteïd (§ 382) zu erkennen.

2. Pseudomucin. Der Nachweis geschieht in der § 400 für die Darstellung des Pseudomucins angegebenen Weise.

3. Mukoïde, die nach 1 und 2 nicht abgeschieden werden. Die Flüssigkeit wird durch Erhitzen zum Sieden unter vorsichtigem Essigsäurezusatz enteiweisst, Filtrat und Waschwasser werden genau neutralisirt, auf dem Wasserbade stark eingeengt und mit Alkohol gefällt. Der Niederschlag wird in Wasser gelöst und durch Dialyse von Salzen befreit. Ein jetzt auf Zusatz von Essigsäure auftretender Niederschlag ist zu prüfen, ob er nach dem Kochen mit Mineralsäure reducirt (Hammarsten[1]).

544. **Serumalbumin, Serumglobulin, Fibrinogen.** Ein nicht zu kleiner Theil der Flüssigkeit*) z. B. 100 ccm wird entweder bei 30° vollständig mit pulverisirtem, krystallisirtem Magnesiumsulfat gesättigt oder mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt, filtrirt, der Niederschlag mit gesättigter Magnesiumsulfatlösung resp. halb gesättigter Ammonsulfatlösung ausgewaschen und sowohl das Filtrat als auch der Niederschlag untersucht.

1. Das Filtrat wird zum Sieden erhitzt. Flockige Coagulation zeigt das Vorhandensein von Serumalbumin an.

2. Der Niederschlag wird zwischen Filtrirpapier ausgepresst, dann in nicht viel Wasser gelöst.

a) In einem Theil dieser Lösung werden nach § 24 die Coagulationstemperaturen bestimmt. Fibrinogen gerinnt bei 52—55°, Serumglobulin über 70°.

b) Ein anderer Theil der Lösung, ebenso wie ein Theil der ursprünglichen serösen Flüssigkeit werden mit etwas frisch gelassenem, vom ausgeschiedenen Fibringerinnsel abgepresstem Blut versetzt und einige bis

---

*) Enthält die Flüssigkeit durch Essigsäure fällbare Stoffe (§ 543, 1), so wird sie zunächst durch mässigen Essigsäurezusatz und Filtration von diesen befreit, mit Natriumcarbonat neutralisirt und nun weiter, wie oben angegeben, behandelt. Durch Essigsäure nicht fällbare Mukoïde (§ 543, 2 u. 3) können nur nach erfolgter Coagulation der Eiweissstoffe von diesen getrennt werden.

[1]) Maly's Jahresber. 1890. S. 419.

24 Stunden bei 20—30° stehen gelassen. Tritt Gerinnung der ganzen Flüssigkeit oder Abscheidung gallertiger Flocken von den Eigenschaften des Fibrins (§ 296) ein, so enthielt die Flüssigkeit Fibrinogen.

Das zur Reindarstellung von Fibrinogen von Hammarsten angegebene Verfahren (§ 288) ist zum Nachweis kleiner Mengen nicht geeignet. Zur Isolirung und Erkennung auch kleiner Fibrinogenmengen wird vermuthlich das Verfahren von Reye (§ 288) brauchbar sein, doch ist seine Anwendbarkeit besonders auch im Hinblick auf die in den serösen Flüssigkeiten nachgewiesenen Proteïde noch zu prüfen.

545. **Propeptone.** Die Prüfung auf Propeptone würde nach Abscheidung der durch Kochen unter Essigsäurezusatz abscheidbaren Eiweissstoffe nach den beim Harn angegebenen Vorschriften (§ 517) auszuführen sein; doch fehlen die Propeptone den serösen Flüssigkeiten wohl meistens.

Ueber den Nachweis der Mucinalbumose siehe § 404.

Bestimmung der gerinnbaren Eiweissstoffe in serösen Flüssigkeiten.

546. **Albumin + Globuline.** Man erhitzt 50 bis 100 ccm Wasser in einer Porzellanschale zum Kochen und trägt eine kleine gemessene oder gewogene Menge der zu untersuchenden Flüssigkeit (etwa 15—20 ccm) in das siedende Wasser ein. Man erhält noch einige Minuten im Sieden, während man mittelst eines Glasstabes kleine Tropfen verdünnter Essigsäure hinzufügt, bis die Gerinnung grossflockig und die Flüssigkeit klar erscheint, filtrirt durch ein gewogenes, aschefreies Filter, wäscht mit Wasser, kochendem Alkohol und mit Aether aus, trocknet bei 120° bis zum constanten Gewicht, verascht und bringt das Gewicht der Asche in Abzug. Die Resultate fallen gewöhnlich ein wenig zu niedrig aus, da etwas von den Eiweissstoffen in Lösung bleibt; man prüft das Filtrat mit etwas Ferrocyankalium + Essigsäure und wiederholt die Fällung in einer neuen Portion, wenn hierbei deutliche Trübung eintritt.

547. **Albumin, Globuline.** Man fügt zu einer gemessenen oder gewogenen Menge der Flüssigkeit (20 bis 50 ccm) das gleiche Volumen gesättigter neutraler Ammonsulfatlösung, filtrirt nach mindestens einstündigem Stehen durch ein gewogenes, aschefreies Filter und wäscht mit halbgesättigter Ammonsulfatlösung aus, bis das Filtrat keine Reaction mit Ferrocyankalium + Essigsäure mehr giebt.

a) Das Filtrat wird zum Kochen erhitzt, mit Essigsäure ganz schwach angesäuert, nochmals aufgekocht und durch ein gewogenes, aschefreies Filter filtrirt. Der Niederschlag wird anhaltend mit heissem Wasser, zuletzt mit heissem Alkohol und mit Aether gewaschen und bei 120° bis zum constanten Gewicht getrocknet. Die Substanz wird verascht und das Gewicht
Albumin. der Asche in Abzug gebracht: Albumin.

b) Der Niederschlag wird einige Zeit bei 110° erhitzt, dann mit heissem Wasser, Alkohol und Aether ausgewaschen und in der gleichen Weise,
Globuline. wie unter a angegeben, weiter behandelt: Serumglobulin + Fibrinogen.

Hat man in einer besonderen Portion der Flüssigkeit die Summe der gerinnbaren Eiweissstoffe bestimmt, so dient diese Globulinbestimmung als Controlle.

548. **Fibrinogen.** Eine genaue Bestimmung des Fibrinogens ist noch nicht ausführbar. Ob sich das von Reye (§ 288) angegebene Isolirungsverfahren für diesen Zweck eignet, müssen weitere Untersuchungen lehren. Näherungswerthe erhält man, wenn man eine abgemessene, nicht zu kleine Portion der Flüssigkeit (40—100 ccm) mit einer nicht zu geringen Menge des aus frisch geronnenem Blut ausgepressten, durch Leinwand filtrirten Serums versetzt (ein mässiger Gehalt des letzteren an rothen Blutkörperchen schadet nicht weiter), 24 Stunden bei 20—30° stehen lässt, dann das gebildete Fibrin schlägt, auf einem gewogenen Filter sammelt, zuerst mit 1 proc. Chlornatriumlösung, dann mit Wasser, endlich mit heissem Alkohol wäscht, bei 120° trocknet und wägt. Das Gewicht des gebildeten Fibrins kann man als ungefähren Ausdruck des Gewichts vom Fibrinogen in der untersuchten Flüssigkeit gelten lassen. (Will man den Zweifel ausschliessen, ob auch das ganze Fibrinogen bei diesem Versuche zur Gerinnung gebracht sei, so stelle man zwei solche Bestimmungen an und setze vom frisch ausgepressten Serum zur einen Portion des Transsudats doppelt so viel als zur andern. Hat sich dann nach 24 Stunden in beiden Versuchen gleich viel Fibrin abgeschieden, so ist auch sicher das ganze Fibrinogen in Fibrin umgewandelt.)

Die Circumpolarisation kann zur Bestimmung der Eiweissstoffe nicht verwandt werden, da einerseits die Angaben über die spec. Drehung der einzelnen Eiweissstoffe schwanken, andererseits diese Eiweissstoffe in wechselnden Mengenverhältnissen in den serösen Flüssigkeiten vorkommen.

Bestimmung des Gesammtstickstoffs, Nachweis und Bestimmung von Ammoniak in eiweisshaltigen Flüssigkeiten und Organen.

Der Gesammtstickstoff wird nach Kjeldahl bestimmt (§ 453, b).

549. Der Nachweis des Ammoniaks geschieht nach § 52.

Für die quantitative Bestimmung des Ammoniaks kann man nach 1 oder nach 2 verfahren. Für seröse Flüssigkeiten, Blut und Organe ist aus verschiedenen Gründen das unter 2 beschriebene Verfahren mehr zu empfehlen. Will man letzteres auf den Harn anwenden, so erscheint es zweckmässiger, den Harn vorher von Eiweiss zu befreien und statt der Magnesia-Emulsion Kalkmilch[1]) zu benützen.

1. Verfahren nach Schlösing (§ 475) nach vorheriger Entfernung der Eiweissstoffe.

a) Im eiweisshaltigen Harn. Die Entfernung der Eiweissstoffe geschieht nach S. 427 Anm., am besten unter Zusatz von 10—15 ccm gesättigter Kochsalzlösung auf 100 Harn. Entfernung der Eiweissstoffe.

b) In serösen Flüssigkeiten und Blut. Die Entfernung der Eiweissstoffe

[1]) Nencki u. Zaleski, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **36**. 385. (1895.)

geschieht nach Salkowski[1]), indem man zu 50 ccm Blut oder seröser Flüssigkeit in einem trockenen Kolben 20 g gepulvertes Kochsalz und 100 ccm einer Mischung von 7 Vol. gesättigter Kochsalzlösung und 1 Vol. 30proc. Essigsäure bringt, stark umschüttelt und nach 15—20 Min. durch ein trockenes Filter filtrirt. 50—100 ccm des Filtrats werden zur Bestimmung nach Schlösing benutzt.

Verfahren nach Wurster.

2. Verfahren nach Wurster[2]) in der Modification von Nencki und Zaleski[3]).

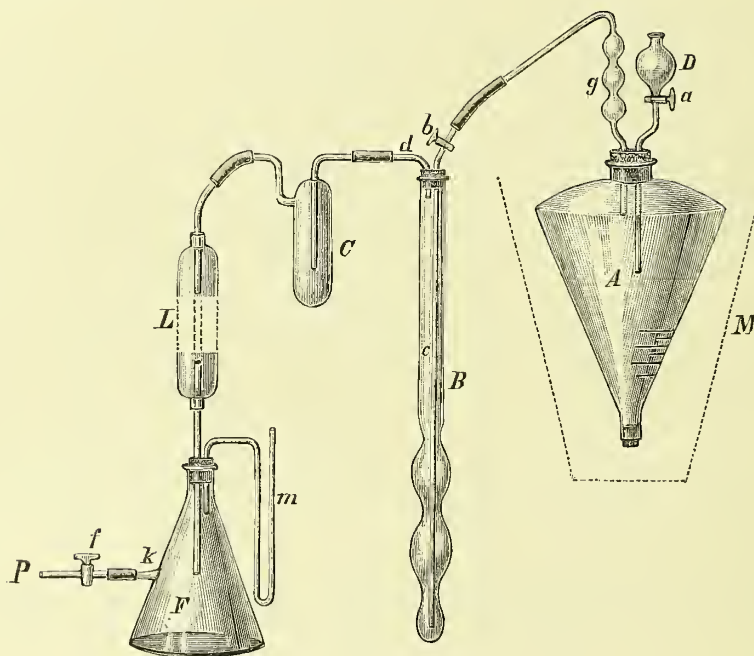


Fig. 13.

Princip. Das Ammoniak wird durch Magnesia in Freiheit gesetzt, im Vacuum bei 35—37° überdestillirt, in titrirter Schwefelsäure aufgefangen und durch Zurücktitriren mit Natronlauge quantitativ bestimmt.

Erforderliche Lösungen und Apparate: 1. Eine 2proc. ammoniakfreie Magnesia-Emulsion.

2. $^{n}/_{10}$ Schwefelsäure und $^{n}/_{20}$ Natronlauge (§ 17). Für den Harn stärkere ev. Säure.

3. Der in Fig. 13 dargestellte Apparat. Die Abbildung macht eine eingehende Beschreibung unnöthig. *M* ist ein Wasserbad, *A* ein dickwandiges Glasgefäss von 1,5 bis 2 Liter Inhalt und von 50—350 ccm mit einer Graduirung versehen. Der Zwischenraum zwischen 2 Strichen entspricht 50 ccm. Die obere und untere Oeffnung sind zwecks

---

[1]) Centralbl. f. d. med. Wiss. 1880. S. 690.

[2]) Centralbl. f. Physiol. I. 485. (1888.)

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **33**. 193. (1901.)

luftdichten Verschlusses matt geschliffen. *B* hat eine Länge von ungefähr 42 und einen Durchmesser von ungefähr 17 mm. *L* ist ein Liebig'scher Kühler, *m* ein Manometer, *k* führt zur Wasserstrahlpumpe. Die Verbindungen sind aus dickwandigem Kautschuk hergestellt.

Vorbereitung. Für die Bestimmung wägt man von serösen Flüssigkeiten*) oder Blut*) 100 g, von Geweben*) 40—50 g bis auf 0,1 g genau ab und bringt sie (die Gewebe, nachdem sie mit gereinigtem Seesand möglichst fein zerrieben und mit etwa 200 ccm Wasser in eine möglichst dünnbreiige Emulsion übergeführt sind) in das Gefäss *A*. Vom Harn nimmt man 20—30 ccm und verdünnt ihn mit dem drei- bis fünffachen Volumen Wasser. In das Gefäss *B* werden bei Bestimmungen im Blut oder in serösen Flüssigkeiten 10 ccm, bei Bestimmungen in Organen 20 ccm $^{n}/_{10}$ Schwefelsäure gebracht. Für den Harn muss die Schwefelsäure zuweilen stärker sein; siehe ausserdem das oben über den Harn Gesagte.

Ausführung. Nachdem die einzelnen Theile des Apparates mit einander verbunden sind, wird zunächst evacuirt. Der Hahn *a* wird geschlossen, der Hahn *b* anfangs halb geöffnet, damit die rasch aufsteigenden Blasen in das Gefäss *B* nicht hinübergerissen werden; später wird er ganz geöffnet. Während des Evacuirens werden die Gummistopfen in den Gefässen *A* und *B*, sowie event. die Kautschukverbindungen mit geschmolzenem Paraffin luftdicht gemacht. Man lässt Wasser durch den Kühler fliessen und auch das Gefäss *F* wird durch Schnee oder kaltes Wasser gekühlt. Zeigt das Manometer *m* einen Druck von 15—10 mm und passiren die Gasblasen durch das Gefäss *B* langsam, so wird der Hahn *b* geschlossen und durch den Scheidetrichter *D* 50 ccm der Magnesia-Emulsion hinzugelassen. Jetzt wird der Hahn *b* von Neuem geöffnet und, wenn die Gasentwicklung nachgelassen hat, mit dem Erwärmen des Wasserbades *M* begonnen. Die Temperatur muss, namentlich bei der Destillation von Blut, sehr langsam gesteigert (2—4 Stunden, bis sie 35° erreicht hat) und die ganze Zeit auf 35—37° gehalten werden. Sind etwa zwei Drittel der Flüssigkeit aus *A* überdestillirt, was im Ganzen ungefähr 5—6 Stunden beansprucht, so kann die Destillation als beendet betrachtet werden. Zunächst wird die Kautschukverbindung zwischen *C* und *L* mittelst Klemmschraube geschlossen, ebenso der Hahn *b* und durch den Hahn *a* wird in *A* Luft hineingelassen. Hierauf wird die Kautschukverbindung zwischen *g* und *c* gelöst und durch vorsichtiges Oeffnen des Hahns *b* die Luft in *B* und *C* eingelassen. Bei zu raschem Oeffnen kann die Luft so heftig in *B* eindringen, dass ein Theil der Säure nach *C* hinübergeschleudert wird. Sind *B* und *C* mit Luft gefüllt, so wird ihr Inhalt in ein Becherglas gegossen, mit Wasser nachgespült und mit $^{n}/_{20}$ Lauge unter Benutzung von Lacmoïd-Malachitgrün (§ 15) zurücktitrirt.

*) Die Verarbeitung muss spätestens innerhalb einiger Stunden nach dem Tode bezw. nach der Entnahme aus dem lebenden Körper geschehen.

Nachweis und Bestimmung des Harnstoffs in serösen Flüssigkeiten.

550. Die Methoden der Isolirung, des Nachweises und der annähernd quantitativen Bestimmung sind §§ 109 und 111 besprochen.

Ein Verfahren zur indirecten Bestimmung des Harnstoffs ist von Schöndorff[1]) angegeben. Die Ausführung ist genau die gleiche, wie sie § 479 für die Bestimmung des Harnstoffs im Harne beschrieben worden ist. Für die Zerstörung durch Phosphorsäure nimmt man von dem Filtrat der mit Kalkpulver verriebenen Flüssigkeit eine Quantität, welche 5 oder 10 ccm der serösen Flüssigkeit entspricht.

Die Methode beruht ebenso wie im Harne darauf, dass nach den Ermittelungen von Schöndorff die Mengen Ammoniak und Kohlensäure, welche die mit Phosphorwolframsäure-Salzsäure ausgefällten Flüssigkeiten, beim Erhitzen mit Phosphorsäure bezw. mit alkalischer Chlorbariumlösung auf 150° liefern, sich wie 2 : 1 verhalten und dass der Harnstoff der einzige bekannte Körperbestandtheil ist, welcher Ammoniak und Kohlensäure in diesem Verhältniss liefert.

Nachweis von Kreatin (und Kreatinin) in serösen Flüssigkeiten.

551. Während Kreatin ein regelmässig vorkommender Bestandtheil zu sein scheint und besonders bei Typhuskranken reichlich in serösen Flüssigkeiten auftritt, findet sich Kreatinin wahrscheinlich nicht.

Die Methode der Isolirung des Kreatins und der Nachweis sind § 116 angegeben. Wenn keine Krystallisation zu erreichen ist, so wird die Flüssigkeit selbst zur Ueberführung des nicht krystallisirten Kreatins in Kreatinin $^1/_4$ Stunde mit verdünnter Schwefelsäure gekocht, nach dem Erkalten mit Phosphorwolframsäure ausgefällt und der Niederschlag weiter nach Hofmeister (S. 130) behandelt. Die dabei erhaltene Substanz prüft man auf Kreatinin (S. 131).

Nachweis und Bestimmung der Harnsäure in serösen Flüssigkeiten.

552. Die Isolirung geschieht nach v. Schröder[2]) am Besten als harnsaure Silber-Magnesia, in derselben Form, in der sie nach Salkowski auch aus dem Harne für die quantitative Bestimmung (§ 484) ausgefällt wird.

Man verdünnt die Flüssigkeit mit Wasser (Blutserum auf sein fünffaches Volumen), erhitzt unter Zusatz von Essigsäure zum Kochen, filtrirt, dampft zur Trockne ein und nimmt den Rückstand mit heissem Wasser auf. In der trüben Flüssigkeit erzeugt man durch Zusatz von etwas Magnesiumsulfat und Natriumcarbonat einen Niederschlag und erzielt dadurch eine schnelle Filtration. Das klare Filtrat wird nach § 484 mit Magnesiamischung und Silbernitrat gefällt, ausgeschiedenes Chlorsilber

---

1) Arch. f. d. ges. Physiol. **62**. 1. (1896.) **74**. 307. (1899.)

2) Beitr. z. Physiol., C. Ludwig gewidmet 1887. S. 89.
Abeles, Wien. med. Jahrb. 1887. S. 479.

durch Ammoniak gelöst, der flockige Niederschlag filtrirt, ausgewaschen und mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Man dampft jetzt, ohne zu filtriren, nach Zusatz von etwas verdünnter Essigsäure ein und verfährt nach a oder b.

a) Qualitative Prüfung. Der Rückstand wird mit heissem Wasser extrahirt, das Filtrat zur Trockne verdampft und mit der Murexidprobe (S. 140, 2) geprüft.

b) Quantitative Bestimmung. Der Rückstand wird in heissem Wasser zertheilt, die Flüssigkeit gekocht, mit ein paar Tropfen Natronlauge oder Sodalösung versetzt und sofort in ein etwas Essigsäure enthaltendes Becherglas filtrirt. Die essigsaure Lösung wird auf ein kleines Volumen eingedampft und an einem kühlen Ort der Krystallisation überlassen. Weiter siehe § 484.

Nachweis und Bestimmung des Zuckers in serösen Flüssigkeiten.

553. Entfernung des Eiweiss. Die Flüssigkeiten müssen zunächst von Eiweissstoffen befreit werden. Zur vollständigen Entfernung derselben, welche durch einfaches Erhitzen nach Verdünnen mit Wasser und Ansäuern mit Essigsäure nicht leicht gelingt, verdünnt man die Flüssigkeit passend mit Wasser (Blutserum mit dem zehnfachen Volumen), fügt einige Cubikcentimeter conc. Natriumacetatlösung hinzu, darauf conc. Eisenchloridlösung bis zur bleibend rothen Farbe und Sodalösung bis zur ganz schwach sauren Reaction, kocht auf und filtrirt (Hofmeister[1]). Da das Coagulum viel Zucker zurückhält, so ist es für die quantitative Bestimmung durchaus nothwendig, den Eiweissniederschlag sehr gründlich auszupressen, den Pressrückstand mit heissem Wasser auszuziehen, dieses Auspressen und Extrahiren mehrfach zu wiederholen, alle diese Waschwässer mit dem ersten Filtrat zu vereinigen und bei schwach saurer Reaction auf das ursprüngliche Volumen einzuengen.

Entfernung des Eiweiss.

Folgendes von Abeles[2]) für Blut angegebene Verfahren eignet sich auch für seröse Flüssigkeiten. Man lässt zu 50 ccm abs. Alkohol, in dem sich 2,5 g Zinkacetat (z. Th. gelöst, z. Th. suspendirt) befinden, 50 ccm Flüssigkeit fliessen, mischt schnell, filtrirt nach einigen Minuten (bei Blut, wenn der Niederschlag eine gleichmässig schwarz-graue Farbe angenommen hat) durch ein mit Alkohol angefeuchtetes Faltenfilter, wäscht mit 90 bis 95 proc. Alkohol nach, bringt den Rückstand auf Leinwand und presst mit der Handpresse scharf aus. Der Rückstand wird mit Alkohol in der Reibschale zerrieben, auf ein Filter gebracht, mit Alkohol nachgewaschen und wieder ausgepresst. Die vereinigten Flüssigkeiten werden mit einer 20 proc. Sodalösung solange unter Umrühren versetzt, bis das Zink als Carbonat ausgefällt ist und die Mischung deutlich alkalische Reaction giebt. Man

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 4. 263. (1880.) [2]) Ebendas. 15. 498. (1891.)

filtrirt, macht das Filtrat (welches bei 50 ccm Blut 250—300 ccm beträgt) mit Essigsäure schwach sauer und dampft auf etwa 20—30 ccm ein. Hierbei scheidet sich noch etwas Unlösliches ab. Man spült die Lösung in einen Maasscylinder, setzt neuerdings 3—4 Tropfen einer conc. wässerigen Lösung von Zinkacetat oder Chlorzink hinzu, macht mit Natriumcarbonat alkalisch, filtrirt, säuert mit Essigsäure an und füllt auf das ursprüngliche Volumen auf.

Auch das Verfahren zur Enteiweissung des Blutes nach Cl. Bernard oder Röhmann[1]) (35 ccm Blut, 150 ccm Wasser, 15 ccm gesättigte Natriumsulfatlösung, Essigsäure bis zur schwach sauren Reaction, Aufkochen) sowie das nach Seegen[2]) lassen sich für die serösen Flüssigkeiten verwenden. Auch hier ist eine gründliche und wiederholte Extraction der Eiweisscoagula nöthig.

554. Der Nachweis des Zuckers*) in der eiweissfreien Flüssigkeit geschieht mit Hülfe der § 92 aufgeführten Reactionen.

Für die quantitative Bestimmung erscheint am geeignetsten das Verfahren von Pflüger-Volhard[3]); allerdings liegen noch keine Versuche vor, welche die Zuverlässigkeit dieser für reine Traubenzuckerlösungen sehr exacten Methode für Lösungen, wie die vorliegenden, beweisen.

Verfahren nach Pflüger-Volhard.

555. Verfahren nach Pflüger-Volhard.

Princip. Das beim Kochen mit alkalischer Kupferoxydlösung gebildete Kupferoxydul wird durch Asbest abfiltrirt und durch Salpetersäure gelöst, das gelöste Kupfer bei Gegenwart von schwefliger Säure durch überschüssig zugesetzte $^{n}/_{10}$ Rhodanammoniumlösung als Kupferrhodanür gefällt und im Filtrat der Ueberschuss des Rhodanammoniums mit $^{n}/_{10}$ Silberlösung bestimmt.

Erforderliche Lösungen und Apparate. 1. Allihn'sche Lauge. Im Becherglase werden 200 ccm Wasser zum Sieden erhitzt, 173 g mehrmals umkrystallisirtes Seignettesalz hineingethan und, wenn die Lösung nicht vollkommen klar ist, durch ein kleines Filter in einen Maasskolben von 500 ccm filtrirt. In einer verschlossenen Flasche befindet sich eine Alkalilauge, die in 100 ccm 70—75g Aetzkali enthält. Man titrirt sie, berechnet, in wie viel Cubikcentimeter 125 g KOH enthalten sind und lässt diese Menge (nach Abnahme des Trichters) aus einer Bürette in den Kolben, welcher die Seignettesalzlösung enthält, fliessen. Das Becherglas, welches das Seignettesalz enthielt, wird nun mit wenig heissem Wasser ausgewaschen und dieses auf das Filter des wieder aufgesetzten Trichters gegossen und das so lange fortgesetzt, bis das Volumen 500 ccm erreicht hat. Dann setzt man den Stopfen auf, mischt, lässt abkühlen, füllt wieder Wasser bis zur Marke auf und mischt abermals. Die Lösung hält sich lange unzersetzt.

*) Nach Pavy u. Slau kommen im Blut zwei Zucker vor: Traubenzucker und ein zweiter, dessen Osazon bei 153—155° schmilzt (Isomaltose). Uebereinstimmend damit fanden sie, dass das Reductionsvermögen beim Kochen mit Säuren zunimmt. Journ. of Physiol. **26**. 282. (1901.) Ueber das im Blut vorkommende Jecorin siehe § 140.

[1]) Centralbl. f. Physiol. **4**. 12. (1891.) [2]) Ebendas. **6**. 501 u. 604. (1893.)

[3]) Pflüger, Arch. f. d. ges. Physiol. **66**. 635 (1897.) u. **69**. 399. (1898.) Bickel, Ebendas. **75**. 248. (1899.)

2. Eine Kupferlösung, die im Liter 69,2 g krystallisirtes Kupfersulfat enthält, das einmal aus verd. Salpetersäure und dreimal aus Wasser umkrystallisirt ist, wobei zu beachten ist, dass das Lösen und Abdampfen nur auf dem mässig erhitzten Wasserbade geschehen darf.

3. $^{n}/_{10}$ Silberlösung. 4. $^{n}/_{10}$ Rhodanammoniumlösung.

5. Salpetersäure (1,2 sp. G.), der vor dem Gebrauch einige Harnstoffkrystalle zuzufügen sind. 6. Conc. Sodalösung.

7. Kaltgesättigte wässrige Lösung von schwefliger Säure.

8. Kaltgesättigte wässrige Lösung von Eisenammoniakalaun.

9. Asbestfilterröhrchen: ein etwa 10 cm langes und 1,5 cm weites Glasrohr, das sich in ein engeres Abflussrohr verjüngt und an dessen anderem Ende ein Trichter von etwa 100 ccm Gehalt angeschmolzen ist. In dem unteren Theil des Glasrohrs befindet sich ein lockerer, der Wandung gut anliegender Pfropf von weichem, langfaserigem Asbest, der keine Spur Kupferoxydul durchlassen darf.

Ausführung. In ein etwa 300 ccm fassendes Becherglas bringt man 25 ccm*) der den Traubenzucker enthaltenden klaren und genau gemessenen Flüssigkeit, 30 ccm der Allihn'schen Lauge, 30 ccm der Kupfersulfatlösung und 60 ccm Wasser und mischt durch rotirende Bewegung. Nachdem das Becherglas mit einem Uhrglase (Concavität nach unten) bedeckt und in einen horizontalen, an einem Stativ angefügten Ring gehängt ist, taucht man es in einem gegebenen Moment in ein stark siedendes Wasserbad, sodass es etwas über die untere Hälfte eintaucht, hebt es nach genau 30 Min. wieder heraus, fügt sofort 145 ccm kaltes Wasser hinzu und filtrirt mit der Saugpumpe durch das Asbestfilterröhrchen (dessen Abflussrohr in den Gummistopfen der Saugflasche eingefügt ist) in der Weise, dass zunächst die blaue überstehende Flüssigkeit und nachher erst mit Hülfe von Wasser das Kupferoxydul auf das Filter gebracht wird und dass ferner während der Filtration stets Flüssigkeit im Röhrchen sich befindet. Nachdem das Filter mit Wasser völlig ausgewaschen ist, setzt man das Röhrchen auf eine neue Saugflasche, löst das Kupferoxydul durch vorsichtiges Uebergiessen mit Salpetersäure (man bedecke den Trichter mit einem Uhrglase, um Herausspritzen zu vermeiden!) und wäscht nun unter Anwendung der Saugpumpe mit Wasser völlig aus. Lösung und Spülwasser werden mit einer ungefähr berechneten Menge Schwefelsäure (zur Bildung von Kupfersulfat) versetzt, bis etwa zur Trockne in einer Porzellanschale verdampft, der Rückstand nach Zufügen einiger Tropfen Schwefelsäure in Wasser gelöst und die Lösung in ein 300 ccm-Maasskölbchen übergeführt. Nun giebt man einige Tropfen conc. Sodalösung hinzu, bis eben ein bleibender Niederschlag entsteht, fügt 50 ccm der schwefligen Säure hinzu, wodurch der Niederschlag wieder gelöst wird, kocht auf und fügt aus einer Bürette so viel der $^{n}/_{10}$ Rhodanammoniumlösung zu, bis die blaugrüne Kupferfarbe vollständig verschwunden ist. Es bildet sich ein feinflockiger Niederschlag

*) Der Zuckergehalt dieser Lösung darf nicht weniger wie 0,05 und nicht mehr wie 1 pCt. betragen.

von Kupferrhodanür, der in einer wasserhellen Flüssigkeit schwimmt. Nach dem Erkalten wird das Kölbchen bis zur Marke mit Wasser aufgefüllt und nach gutem Umschütteln durch ein trockenes Filter filtrirt. Zu 100 ccm des klaren Filtrats setzt man in einem Becherglase 50 ccm Salpetersäure und 10 ccm der Eisenammoniakalaunlösung, fügt $^{n}/_{10}$ Silberlösung aus einer Bürette bis zum völligen Verschwinden der rothen Farbe hinzu und titrirt nun mit $^{n}/_{10}$ Rhodanlösung zurück, bis ein schwach gelbröthlicher Farbenton erreicht ist. Ist nach 24stündigem Stehen des bedeckten Becherglases im Dunkeln die röthliche Farbe wieder verschwunden, so sind noch 1 oder auch 2 Tropfen Rhodanlösung zuzufügen.

Berechnung. 1 ccm $^{n}/_{10}$ Silberlösung (enthaltend 16,997 mg $AgNO_3$) entspricht 6,36 mg Cu. Die den gefundenen mg Cu entsprechenden Mengen Traubenzucker liest man in der Tabelle (Anh.) ab.

Nachweis und Bestimmung der ätherlöslichen Substanzen (Fett, Lecithin, Cholesterin) in serösen Flüssigkeiten.

556. 20—50 g werden in einem Becherglase abgewogen oder abgemessen und nach S. 160 oben oder besser in folgender Weise behandelt. Man mischt sie mit dem 3—4fachen Volumen abs. Alkohols, lässt bis zum nächsten Tage unter wiederholtem Umrühren bedeckt stehen, filtrirt den Niederschlag ab, wäscht mit abs. Alkohol nach und bringt ihn in das Extractionsgefäss eines Soxhlet'schen Apparates. Das alkoholische Filtrat wird bei einer Temperatur unter 60° und bei neutraler Reaction eingedampft, der Rückstand mit einer Mischung von Alkohol und Aether aufgenommen, das Filtrat wieder verdunstet und der Rückstand mit Aether aufgenommen. Diese ätherische Lösung bringt man in den Kolben des Soxhlet'schen Apparates, extrahirt nun stundenlang, verdunstet dann den Aether, nimmt den Rückstand mit wasserfreiem Aether auf, verdunstet die klare event. filtrirte Lösung in einem gewogenen Becherglase und trocknet im Vacuum über Schwefelsäure bis zum constanten Gewicht. Im Rückstand lassen sich Fett, Lecithin, Cholesterin nach S. 84 und S. 160 einzeln nachweisen und nach § 560 B 3 b bestimmen.

Für den Nachweis der Cholesterinester, welche sich ebenfalls im Aetherrückstand finden, sind grössere Mengen Blutserum erforderlich; derselbe geschieht nach § 235.

Für den Nachweis von fein vertheiltem Fett, welches eine Trübung seröser Flüssigkeiten bewirkt, dient ausser der mikroskopischen Prüfung die Behandlung mit Aether, indem beim Schütteln mit Aether (event. nach Zusatz von Kalilauge) eine Klärung eintritt. Im Aetherrückstand lässt sich das Fett nachweisen (§ 88).

Nachweis von Leucin und Tyrosin in serösen Flüssigkeiten.

557. Man nimmt die Flüssigkeiten möglichst frisch in Arbeit und befreit sie zunächst von Eiweiss u. z. entweder nach passender Verdünnung mit

Wasser durch Aufkochen unter Essigsäurezusatz und Filtriren oder durch Zufügen des 3—4fachen Volumens Alkohol, Erhitzen auf dem Wasserbade und Filtriren nach völligem Erkalten. Das Filtrat (bei Anwendung von Alkohol nach Entfernung desselben durch Abdampfen) wird zuerst mit neutralem, dann mit basischem Bleiacetat unter sorgfältiger Vermeidung eines Ueberschusses ausgefällt und die filtrirte Flüssigkeit nach Entfernung des Bleies durch Schwefelwasserstoff eingedampft. Man prüft die sich ausscheidenden Krystallisationen von Tyrosin und Leucin mikroskopisch (S. 233 u. S. 171 oben) und kann eine Trennung nach S. 177 versuchen.

Nachweis von Farbstoffen in serösen Flüssigkeiten.

558. Die gelbe Farbe des Blutserums und der meisten serösen Flüssigkeiten scheint stets durch einen in Fetten besonders leicht löslichen, durch Alkalien nicht zersetzbaren Stoff hervorgerufen zu werden, der wohl in die Gruppe der Luteïne (§ 271) gehört. Die Ursache der Grünfärbung, welche Blutserum und seröse Transsudate beim Stehen an der Luft annehmen, ist noch unbekannt.

Unter pathologischen Verhältnissen treten Gallenfarbstoffe (im Pferdeblutserum nach Hammarsten oft normalerweise vorhanden), Hämoglobin, Methämoglobin und Hämatin auf.

Der Nachweis der Gallenfarbstoffe geschieht direct mit der Gmelin'schen Probe (S. 289, 1). Nach v. Jaksch[1]) färbt sich gallenfarbstoffhaltiges Blutserum beim Erhitzen auf 78—80° leicht grünlich und nimmt bei wiederholtem Erwärmen auf 50—60° je nach der Menge des Farbstoffes intensive grasgrüne Färbung an.

Hämoglobin wird nach § 359, Methämoglobin nach § 363, Hämatin nach § 254 nachgewiesen.

Nachweis von verschiedenen Stoffen in serösen Flüssigkeiten.

559. Fettsäuren werden nach § 71 u. 72, Milchsäure nach § 73, Bernsteinsäure nach § 76, Allantoïn nach § 113, Inosit nach § 192 nachgewiesen.

Zum Nachweis von Gallensäuren entfernt man zunächst die Eiweissstoffe auf eine der § 557 angegebenen Weisen und verfährt dann nach § 526 und S. 272.

Quantitative Analyse seröser Flüssigkeiten.

560. Die Bestimmung von Proteïnstoffen, Extractivstoffen, Fett, Lecithin, Cholesterin und Salzen geschieht am besten in folgender Weise:

Man misst oder wägt eine Menge von 20—50 ccm der von körperlichen

[1]) Verhandl. d. 10. Congr. f. innere Medicin. (1890.)

Elementen befreiten (§ 539) Flüssigkeit genau ab, mischt sie in einem Becherglase mit dem 3—4vierfachen Volumen Alkohol*), lässt einige Stunden stehen, bringt den entstandenen Niederschlag auf ein gewogenes aschefreies Filter und wäscht mit Alkohol aus (1. Filtrat). Darauf wäscht man mit heissem Alkohol, Aether und wieder mit Alkohol (2. Filtrat) und zuletzt mit kochendem Wasser (3. Filtrat) sorgfältig aus. Die einzelnen Filtrate werden gesondert aufgefangen. Man erhält auf diese Weise einen Filterrückstand (A) und drei Filtrate (B) (ein wässrig-alkoholisches, ein alkoholisch-ätherisches und ein wässriges).

Bestimmung der Proteïnstoffe und unlöslichen Salze.

A. Filterrückstand. Er enthält die Proteïnstoffe (bis auf einen sehr kleinen Theil, welcher in den wässrig-alkoholischen Auszug übergegangen ist und später abgeschieden wird) und die in Wasser unlöslichen Salze. Etwa vorhandene Farbstoffe gehen nur in sehr geringer Menge in den Niederschlag über mit Ausnahme des Blutfarbstoffs, welcher als Proteïnstoff völlig gefällt wird.

Der Filterrückstand wird zur Entfernung des Wassers noch einmal mit Alkohol gewaschen, im Luftbade (zuletzt bei 120°) bis zum constanten Gewicht getrocknet und dann nach Vereinigung mit dem unten erwähnten Filterrückstand (B 1) in einer gewogenen kleinen Schale verascht; die Asche wird darauf gewogen.

B. Filtrate. Man verdunstet den wässrig-alkoholischen Auszug (1. Filtrat) auf dem Wasserbade bei niedriger Temp. (nicht über 60°), übergiesst den Rückstand mit dem alkoholisch-ätherischen Auszug (2. Filtrat), zerreibt ihn, filtrirt die Lösung nach dem Absitzen durch ein kleines, gewogenes, aschefreies Filter und wäscht wiederholt durch Decantiren mit abs. Alkohol und dann mit Aether nach. Den in Alkohol und Aether unlöslichen, in der Schale verbliebenen Rückstand übergiesst man nun mit dem wässrigen Auszug (3. Filtrat), zerreibt ihn, filtrirt durch dasselbe Filter (aber in ein anderes Becherglas), sammelt alles Ungelöste mit Hülfe von Wasser auf dem Filter und wäscht mit Wasser aus. Man erhält so einen Filterrückstand (1), einen wässerigen (2) und einen alkoholisch-ätherischen (3) Auszug.

Bestimmung des Restes der Proteïnstoffe.

1. Der Filterrückstand, welcher aus dem Rest der Proteïnstoffe besteht, gehört zu dem unter A besprochenen. Er wird wie dieser getrocknet und gewogen und dann mit ihm gemeinsam verascht (siehe oben unter A).

---

*) Enthält eine seröse Flüssigkeit viel Alkali, sodass gar keine oder eine sehr unvollkommene Gerinnung beim Kochen eintritt, so ist es zweckmässig, vor dem Zusatz des Alkohols mit Essigsäure zu neutralisiren, obwohl dadurch das Gewicht der in Alkohol löslichen Extractivstoffe um die Differenz der Aequivalentgewichte der Essigsäure und der Kohlensäure zu hoch gefunden werden muss.

Nach Bunge soll man stets mit Essigsäure ansäuern und ausserdem nach Zufügen des Alkohols einige Tage bei 60—70° stehen lassen, weil andernfalls der Niederschlag sich nicht filtriren und auswaschen lässt. Zeitschr. f. Biol. **12**. 213. (1876.)

2. Der wässrige Auszug, welcher sämmtliche in Wasser lösliche, in Alkohol und Aether unlösliche Bestandtheile enthält, wird in kleiner, gewogener Porzellanschale auf dem Wasserbade verdunstet, der Rückstand bei 110—115° getrocknet, gewogen, bei sehr mässiger Glühhitze verascht und wieder gewogen. Bestimmung der in Alkohol unlöslichen Extractivstoffe und der in Wasser löslichen Salze (1).

3. Der alkoholisch-ätherische Auszug, welcher neben Harnstoff, Zucker, Seifen, Chlornatrium auch Fette, Lecithin, Cholesterin, Cholesterinester enthalten kann, wird bei mässiger Temperatur (nicht über 60°) auf dem Wasserbade, zuletzt im Vacuum über Schwefelsäure verdunstet. Man behandelt den Rückstand mit Aether, filtrirt durch ein kleines Filter in einen Kolben und wäscht wiederholt mit Aether nach. Bestimmung der in Alkohol löslichen Extractivstoffe, der in Aether löslichen Stoffe u. der in Wasser löslichen Salze (2).

a) Der Rückstand*) wird mit Wasser aus dem Becherglase und vom Filter in eine kleine, gewogene Porzellanschale gespült, auf dem Wasserbade zur Trockne verdunstet, bei 100—110° getrocknet, gewogen, bei mässiger Glühhitze verascht und wieder gewogen.

b) Das ätherische Filtrat wird bis auf ein kleines Volumen abdestillirt, dann in ein gewogenes Becherglas gegossen, mit Alkohol und Aether nachgespült, bei mässiger Wärme auf dem Wasserbade verdunstet und der Rückstand im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet und gewogen. Man löst ihn in Alkohol, fügt alkoholische Kalilauge hinzu, erhält die Mischung eine Stunde lang auf dem Wasserbade in schwachem Sieden, verdunstet, löst den Rückstand, welcher aus Seifen, Glycerin, Cholesterin, Cholin, glycerinphosphorsaurem Kali und Aetzkali besteht, in nicht zu wenig Wasser und schüttelt die alkalische Lösung mehrmals mit der ungefähr gleichen Menge Aether aus.

α) Der ätherische Auszug wird bis auf ein kleines Volumen abdestillirt und dann in einem kleinen, gewogenen Becherglase auf dem Wasserbade zur Trockne verdunstet: es bleibt Cholesterin zurück, zusammen mit ein wenig Seife, deren Abtrennung am besten durch Behandlung der völlig getrockneten Masse mit mehreren, sehr kleinen Portionen kaltem Alkohol und 1 oder 2 Tropfen Salzsäure geschieht, da kalter Alkohol die Seifen leicht löst, Cholesterin dagegen ungelöst lässt. Das zurückbleibende Cholesterin wird bei 80° getrocknet und gewogen, die alkoholische Seifenlösung mit der wässrigen Lösung (β) vereinigt.

β) Die wässrige Lösung enthält die Gesammtmenge des Lecithin-

---

*) Dieser Rückstand enthält ausser andern Extractivstoffen auch die Seifen. Zu ihrer Isolirung und Bestimmung fällt man eine besondere Portion der serösen Flüssigkeit mit Alkohol, dampft das Filtrat (nicht über 60°) ein, nimmt den Rückstand mit absolutem Alkohol auf, verdunstet wieder bei niedriger Temperatur und extrahirt den Rückstand mit reinem, wasserfreiem Aether. Der ungelöste Theil wird in Wasser gelöst, die Lösung mit Salzsäure angesäuert und mit Aether ausgeschüttelt. Die (aus den Seifen) stammenden Fettsäuren gehen in den Aether über und bleiben beim Verdunsten desselben zurück. Bestimmung der Seifen.

phosphors in Form von glycerinphosphorsaurem Kali. Die Bestimmung des Phosphors geschieht am besten, indem man nach § 428 verascht und die Phosphorsäure nach § 448 alkalimetrisch ermittelt.

Will man gewichtsanalytisch verfahren, so wird die Lösung mit Salpeter im Ueberschuss versetzt und in einer Silber- oder Platinschale zur Trockne verdunstet, der Rückstand gerade bis zur Entfernung der Kohle geschmolzen und die Schmelze nach dem Erkalten in heissem Wasser gelöst. Die Lösung wird im bedeckten Becherglase mit starker reiner Salpetersäure bis zur stark sauren Reaction versetzt, einige Zeit im offenen Glase zur Entfernung der Untersalpetersäure auf dem Wasserbade digerirt und mit molybdänsaurem Ammoniak gefällt. Die weitere Behandlung geschieht nach § 447.

Berechnung. Berechnung. Aus A und B 1 ergiebt sich die Menge der Proteïnstoffe und die Menge der unlöslichen Salze*), aus B 2 die Menge der in Alkohol unlöslichen, aus B 3a die Menge der in Alkohol löslichen Extractivstoffe (unter ihnen befinden sich wohl immer Seifen), aus beiden zusammen ausserdem die Menge der löslichen Salze**). Aus B 3b erfährt man zunächst die Summe der festen Bestandtheile des Aetherauszugs, dann die Menge des Cholesterins und durch Multiplication des gefundenen P_2O_5 mit 11,38 die Menge des Lecithins (Distearyllecithin). Zieht man die Summe der Gewichte des Cholesterins und Lecithins vom Gewicht des Aetherrückstandes ab, so erhält man die Menge der Fette, vorausgesetzt dass, wie es gewöhnlich der Fall ist, weder freie fette Säuren noch Farbstoffe oder andere in Aether lösliche Stoffe in wesentlicher Quantität vorhanden waren. (Die kleinen Mengen Cholesterinester sind bei dieser Bestimmung nicht berücksichtigt; das in ihnen enthaltene Cholesterin ist als solches, die in ihm enthaltenen Fettsäuren sind als Fett mitbestimmt.)

Es ist nicht zulässig, den Gang der Untersuchung dahin abzuändern, dass die Flüssigkeit eingedampft und der Rückstand getrocknet, pulverisirt und nun nacheinander mit Aether, Alkohol und Wasser extrahirt wird. Die hierbei erhaltenen Rückstände sind, besonders wenn es sich um Blut handelt, compact und zähe und schwer zu trocknen, pulverisiren und extrahiren; ausserdem wird dabei das Lecithin zum grössten Theil zersetzt und unbestimmbar.

3. Untersuchung des Blutes.

Allgemeines.

561. **Bestandtheile.** Das Blut der Wirbelthiere besteht aus dem Plasma und den in diesem Plasma suspendirten morphologischen Elementen (rothe

---

*) Ueber kleine Fehler, welche die Anwesenheit phosphorhaltiger Proteïde bedingt, vergl. S. 472 oben.

**) Genauer ist es freilich, die beiden Aschen nach Ausführung der Wägungen zu vereinigen, mit Wasser zu kochen, durch aschefreies Filter zu filtriren, den ungelöst gebliebenen Theil mit dem Filter zu trocknen, zu glühen und zu wägen, und sein Gewicht den unlöslichen Salzen zuzurechnen.

und weisse Blutkörperchen, Blutplättchen). Das Blutplasma enthält ausser den Bestandtheilen der serösen Flüssigkeiten (§ 537) stets Fibrinogen; über die Zusammensetzung der Blutkörperchen siehe § 574 und § 575.

Ueber „Serum“, „defibrinirtes Blut“, „Blutkuchen“ u. s. w. siehe § 568.

562. **Specifisches Gewicht.** Dasselbe beträgt beim erwachsenen Manne im Durchschnitt 1058, kann aber zwischen 1045 und 1075 schwanken. Zur Bestimmung benutzt man das Pycnometer (§ 23).

Bestimmung des specifischen Gewichts nach Hammerschlag.

Steht nur sehr wenig Blut zur Verfügung, so verfährt man nach Hammerschlag[1]) und L. Zuntz[2]) in folgender Weise: Man füllt ein kleines Becherglas von 10 cm Höhe und 5 cm Weite mit einem Gemisch von Chloroform und Benzol, dessen spec. Gewicht mit dem vermutheten spec. Gewicht des Blutes möglichst übereinstimmt, und lässt einen Tropfen (z. B. direct aus einem Stich in die Fingerbeere) hineinfallen. Steigt er an die Oberfläche, so versetzt man unter leichtem Umschwenken tropfenweise mit Benzol, fällt er zu Boden, so fügt man Chloroform hinzu, bis er gerade schwimmt. Jetzt wird die Mischung durch Leinwand in einen Cylinder filtrirt und das spec. Gewicht mit dem Aräometer ermittelt. Bis der Tropfen zum Schwimmen gebracht ist, dürfen nicht mehr wie 1—2 Minuten verstreichen, da er allmählich durch Diffusionsvorgänge leichter wird (Zuntz).

563. **Farbe.** Die Farbe des arteriellen Blutes ist hellroth, die des venösen dunkelblauroth. Da der rothe Blutfarbstoff (Hämoglobin) ausschliesslich den Körperchen angehört, ist das Blut deckfarben, d. h. in dünnsten Schichten undurchsichtig.

564. **Verhalten verschiedenen Einwirkungen gegenüber.** Auf Zusatz von Wasser quellen die rothen Blutkörperchen unter Aufnahme von Wasser und werden kugelig; Blutfarbstoff geht in Lösung. In Folge dessen wird das Blut dunkler und gleichzeitig lackfarben, d. h. in dünnen Schichten durchsichtig. Eine Lösung des Blutfarbstoffs tritt auch ein durch Einwirkung von Aether, Chloroform, Galle, beim Wiederaufthauen des Blutes nach dem Gefrieren, durch electrische Schläge, auch beim Evacuiren der Blutgase. (Ist das austretende Oxyhämoglobin leicht krystallisirbar, so kann es hierbei zur Krystallbildung kommen).

Das Wiederaufthauen nach dem Gefrieren wirkt wahrscheinlich nur dadurch, dass das krystallinisch sich ausscheidende Wasser beim Aufthauen die Blutkörperchen in seiner Nähe löst; ebenso ist es beim Evacuiren der Gase unmöglich zu vermeiden, dass im leeren Raum verdunstendes Wasser von den Wandungen in das Blut zurückrinnt und am Ort des Einfliessens Blutkörperchen löst. Die Wirkung der electrischen Schläge ist vielleicht eine mechanische, wahrscheinlich auch durch Diffusionsströme bedingte.

565. **Verhalten zu Salzlösungen.** Salzlösungen, welche dieselbe osmotische Spannung, wie das Plasma haben, sogen. isotonische Lösungen, verändern das Volumen der Blutkörperchen nicht (z. B. eine 0,9 proc. Kochsalzlösung für Säugethierblut). Schwächere, sogen. hypisotonische Salzlösungen bewirken eine Quellung und noch schwächere (weniger als 0,6 pCt. für Säugethierblut) Austritt von Blutfarbstoff. Stärkere, sogen. hyperi-

---

[1]) Zeitschr. f. klin. Med. **20**. 444. (1892.)

[2]) Arch. f. d. ges. Physiol. **66**. 539. (1897.)

sotonische Lösungen rufen eine Schrumpfung hervor. Die Blutkörperchen werden zackig und die Farbe des Blutes erscheint heller.

566. **Reaction.** Das Blut reagirt gegen Lacmus und Lacmoïd alkalisch, aber nicht gegen Phenolpthaleïn. Zum Nachweis zerreibt man Blut mit überschüssigem, gepulvertem Ammonsulfat, hält ein rothes Lacmuspapier in den Brei und spritzt es mit Wasser ab. Es hinterbleibt ein blauer Fleck.

Bestimmung der Alkalescenz: Die Bestimmung der Alkalescenz geschieht am Besten in lackfarbenem Blute (Loewy). Die Menge Säure, welche einer bestimmten Quantität Blut hinzugefügt werden muss, um eine (gegen Lacmus oder Lacmoïd) neutrale Reaction zu erzielen, ist verschieden, je nachdem die Eiweissstoffe zuvor entfernt sind oder nicht. Im letzteren Falle braucht man mehr Säure.

nach Loewy. Bestimmung ohne Entfernung der Eiweissstoffe nach Loewy[1]). Man lässt Blut direct aus der Ader in ein 50 ccm fassendes Maassgefäss, dessen enger Hals zwischen 49,5 und 50,5 ccm in $^1/_{10}$ ccm getheilt ist und in dem sich 45 ccm 0,1 proc. Kaliumoxalatlösung befinden, bis zum kalibrirten Theil fliessen und liest genau ab. Auf 9 Th. Salzlösung kommt also ungefähr 1 Th. Blut. Die Flüssigkeit wird gemischt, in ein Becherglas ausgegossen und mit $^n/_{25}$ Weinsäure titrirt, bis ein Tropfen auf einem mit gesättigter Magnesiumsulfatlösung getränkten Lacmus- oder Lacmoïdpapierstreifen eine eben deutlich erkennbare Rothfärbung hervorruft. Als Lacmuspapier verwendet man ein sehr empfindliches, mit Lacmustinctur gefärbtes, geleimtes Papier; den Tropfen lässt man stets gleich lange einwirken, tupft ihn dann mit Filtrirpapier ab und beobachtet die Färbung im Augenblick des Abhebens des Filtrirpapiers.

Bestimmung nach Entfernung der Eiweissstoffe nach Hamburger (Bestimmung des sogen. diffusiblen Alkalis).

nach Hamburger. Kraus[2]), sowie Spiro und Pemsel[3]) entfernen die Eiweissstoffe mit Ammonsulfat; Hamburger[4]) benutzt Alkohol. Letzteres Verfahren scheint die gleichmässigsten Werthe zu liefern und wird in folgender Weise ausgeführt: Man versetzt Blut mit dem doppelten Volumen 96 proc. Alkohols, filtrirt, presst den Niederschlag in einem reinen Tuch aus, vertheilt ihn in Alkohol, presst wieder aus und verfährt noch viermal in derselben Weise. Die ausgepressten trüben Filtrate werden durch ein mit Alkohol befeuchtetes Filter filtrirt, die Filtrate zusammen mit dem ersten auf dem Wasserbade von Alkohol befreit und mit Wasser zum ursprünglichen Volumen aufgefüllt. Man titrirt jetzt mit $^n/_{25}$ Weinsäure unter Benutzung von Lacmoïdpapier als Indicator.

---

1) Arch. f. d. ges. Physiol. **58.** 462. (1894.)

2) Ueber die Vertheilung der Kohlensäure im Blute. Festschrift. Graz 1898.

3) Zeitschr. f. physiol. Chem. **26.** 233. (1899.)

4) Arch. f. Anat. u. Physiol. Physiol. Abthlg. 1898. S. 1.

Jede Methode giebt bei einiger Uebung in Controllbestimmungen genügend übereinstimmende Resultate. Diese sind nur als Ausdruck des Verhaltens gegenüber dem benutzten Farbstoff (Lacmus oder Lacmoïd) anzusehen. Sie geben nur vergleichende Werthe, sagen aber weder über die Natur noch über die absolute Menge der lacmusbläuenden Substanzen etwas aus.

Gerinnung des Blutes.

567. Das aus der Ader gelassene Blut gerinnt, indem sich das im Plasma gelöste Fibrinogen in Fibrin umwandelt. Die Gerinnung erfolgt gewöhnlich wenige Minuten nach dem Verlassen des Blutgefässes, bei manchen Thieren z. B. Pferden erheblich langsamer. Durch manche Maassnahmen lässt sich der Eintritt der Gerinnung verzögern oder ganz verhindern, durch andere beschleunigen.

Verzögerung der Gerinnung.

Verzögert wird sie durch Abkühlung des Blutes, durch Auffangen des Blutes in einem Gefäss, dessen Wandungen innen mit Vaselin überzogen sind, durch Zusatz von Salzlösungen, besonders salpetersauren Salzen, auch Magnesiumsulfat.

Aufhebung der Gerinnung.

Ganz aufgehoben wird die Gerinnung durch reichlichen Salzzusatz, z. B. 1 Vol. gesättigte Magnesiumsulfatlösung auf 3 Vol. Blut. (Sie tritt dann meistens ein, wenn man das Gemisch mit Wasser verdünnt; nach Zusatz von viel Magnesiumsulfat geschieht dies nicht.) Ferner wird sie verhindert durch Zufügen von kalkfällenden Mitteln, z. B. Kaliumoxalatlösung u. z. soviel, dass das Blut 0,1 pCt. Oxalat enthält oder Fluornatrium, durch Injection von Propeptonen oder Blutegelextract in das Gefässsystem von Thieren (Hunden) vor der Blutentnahme, durch Zusatz von ein wenig Aetzalkali oder von hinreichender Menge Essigsäure.

Beschleunigung der Gerinnung.

Beschleunigend wirkt Erhöhung der Temperatur, ferner Bewegung des Blutes durch Quirlen oder Schlagen.

Zuweilen gerinnt das Blut in den Leichen binnen 12 Stunden nicht, gerinnt aber, sobald es aus der Ader gelassen wird; in anderen Fällen gerinnt es aus der Ader gelassen theilweise, kann filtrirt werden, liefert dann nach einiger Zeit wieder eine Gerinnung u. s. w. (Fibrin langsamer Gerinnung), in wieder anderen Fällen gerinnt es gar nicht, doch geschieht dies nur selten. Die Ursachen dieser Verschiedenheiten des Blutes bei verschiedenen Krankheiten sind noch nicht genügend untersucht, im Ganzen kann man jedoch so viel bis jetzt als ausgemacht ansehen:

1. Das Blut gerinnt, alles Uebrige gleich gesetzt, um so schneller, je verdünnter, wässeriger es ist, daher schnelle Gerinnung nach Blutverlusten und bei Hydrämischen.

2. Das Blut gerinnt um so langsamer, je ärmer an Sauerstoff und reicher an Kohlensäure es ist.

Die Gerinnung des Blutes ist ferner um so fester, elastisch zäher, je wasserreicher und je ärmer an Blutkörperchen, rothen und farblosen, das Blut ist. Ein wasserarmes (Cholera), an rothen Blutkörperchen (Plethora) oder farblosen Blutzellen (Leukämie) reiches Blut giebt lockere leicht zerdrückbare Gerinnung.

568. **Blutkuchen, Serum, defibrinirtes Blut.** Gerinnt das Blut bei ruhigem Stehen, so wird es seiner ganzen Menge nach zur Gallerte, diese zieht sich alsbald zusammen und presst eine klare Flüssigkeit aus und nach einigen Stunden sieht man eine ziemlich feste rothe Masse von der verkleinerten Form des Gefässes, in dem die Gerinnung stattgefunden, den Blutkuchen, in einer klaren gelblichen Flüssigkeit, dem Serum. Der Blutkuchen besteht aus einem feinen Faser- und Maschenwerk von Fibrin, in dem die Blutkörperchen eingeschlossen sind.

Blutkuchen. Serum.

Erfolgt die Gerinnung langsam, haben also die rothen Blutkörperchen Zeit sich zu senken, so besteht der obere Theil des Blutkuchens nur aus Fibrin und weissen Blutkörperchen und erscheint weiss (Speckhaut, crusta inflammatoria). Beim langsam gerinnenden Pferdeblut erhält man stets eine solche Speckhaut.

Speckhaut.

Wird das Blut während der Gerinnung in Bewegung erhalten z. B. durch Schlagen mit einem Stäbchen, so scheidet sich das Fibrin als elastische, zusammenhängende Masse um den Stab ab und die Blutkörperchen bleiben im Serum (defibrinirtes Blut).

Defibrinirtes Blut.

Trennung und Untersuchung von Plasma (oder Serum) und Blutkörperchen.

569. **Trennung.** Eine Trennung von Blutkörperchen und Plasma (z. B. im ungerinnbar gemachten Blut § 567) oder Serum (im defibrinirten Blut § 568) durch Filtration ist unausführbar, weil die grosse Weichheit und Elasticität der Blutkörperchen, vermöge derer sie durch Capillaren des Körpers, deren Durchmesser ein geringerer ist als ihr eigener, hindurchschlüpfen, sie auch die Poren des Filtrirpapiers passiren lässt. Zwar kann man die Starrheit der Körperchen sehr wesentlich durch Salzzusatz zum Blute erhöhen, aber auch dann geht noch ein Theil durchs Filter. Eine Trennung lässt sich nur durch freiwillige Senkung der Körperchen während ruhigen Stehens oder durch Centrifugiren erreichen.

570. **Isolirung von Plasma.** Schwer gerinnbares Blut, z. B. Pferdeblut wird in hohen Cylindern aufgefangen und bei 0° stehen gelassen. Nach einiger Zeit haben sich die Körperchen gesenkt, so dass sich klares Plasma abgiessen lässt. Schneller gerinnendes Blut ist durch einen kleinen Zusatz von Oxalat (§ 567) ungerinnbar zu machen und dann derselben Behandlung zu unterwerfen. Auch durch stundenlanges Centrifugiren von ungerinnbar gemachtem Blut kann man Plasma gewinnen.

571. **Isolirung von Serum.** Man lässt Blut gerinnen und giesst das

nach einiger Zeit ausgepresste Serum ab oder man centrifugirt defibrinirtes Blut längere Zeit.

Bei der Gewinnung von Plasma und Serum ist auf die leichte Löslichkeit des Blutfarbstoffs in Wasser Rücksicht zu nehmen (§ 564). Fällt ein Tröpfchen Wasser in eine selbst grosse Quantität Blut, so wird das ganze Plasma oder Serum roth gefärbt und die zerstörten Blutkörperchen sind verloren. Die Farbe von Plasma oder Serum kann also nur dann richtig beurtheilt werden, eine isolirte Untersuchung von Blutflüssigkeit und Blutkörperchen ist nur dann ausführbar, wenn jeder Tropfen Wasser vermieden wird. Dieses bietet aber praktisch einige Schwierigkeiten. Fängt man nämlich warmes Blut in einem kalten Gefässe auf, so beschlägt die Wandung des Gefässes mit Wassertröpfchen durch die Verdunstung aus dem Blute, das Wasser fliesst in das Blut und löst an der Stelle des Einfliessens Blutkörperchen auf. Um daher schon beim Auffangen des Blutes von Menschen oder warmblütigen Thieren eine Zerstörung einzelner Blutkörperchen zu vermeiden, muss man das Gefäss vorher auf Bluttemperatur erwärmen. Auch ist es nöthig, das Gefäss völlig mit Blut zu füllen und zu schliessen, damit nicht auf dem sich schneller abkühlenden Theil des Gefässes über der Flüssigkeit eine Condensation von Wasser stattfindet. Vorsichtsmaassregeln beim Auffangen des Blutes.

572. **Isolirung der Körperchen.** Will man die Körperchen völlig frei von Plasma oder Serum erhalten, so mischt man das ungerinnbar gemachte oder das defibrinirte Blut (von Menschen oder Säugethieren) mit dem zehnfachen Volumen einer Mischung von 1 Vol. gesättigter Kochsalzlösung und 9 Vol. Wasser und lässt in Schalen mit flachem Boden und senkrechten Wandungen absitzen oder centrifugirt. Wird der von der überstehenden Flüssigkeit befreite, schlammige Bodensatz wiederum mit einer in derselben Weise verdünnten Kochsalzlösung vermischt und die Mischung ebenso behandelt, so erhält man als Bodensatz die von andern Blutbestandtheilen so gut wie ganz befreiten Blutkörperchen. Eine Trennung der weissen und rothen Blutkörperchen ist unmöglich. Unter normalen Verhältnissen ist aber die Menge der weissen gegenüber den rothen so gering, dass sie vernachlässigt werden kann.

Zur Isolirung der kernhaltigen rothen Blutköperchen aus Vogel-, Amphibien- und Fischblut benutzt man wegen der Quellung der Nucleïnstoffe der Kerne in Kochsalzlösung Natriumsulfatlösung derselben Concentration.

573. **Untersuchung von Plasma und Serum** geschieht nach §§ 536 ff.

574. **Untersuchung der rothen Blutkörperchen.** Sie enthalten zwei- bis dreimal so viel Wasser als feste Stoffe; diese letzteren bestehen zum allergrössten Theil aus Blutfarbstoff, daneben finden sich in kleinen Mengen andere Proteïnstoffe, Lecithin, Cholesterin und anorganische Salze, besonders Kaliumphosphat und Kaliumchlorid. Fette fehlen.

Die kernhaltigen rothen Blutkörperchen (von Vögeln, Amphibien und Fischen) sind relativ wasserärmer; sie enthalten (im Verhältniss zum Blutfarbstoff) mehr andere Proteïnstoffe, auch mehr Cholesterin, Lecithin und Phosphate als die kernlosen. Fette sind gleichfalls nicht vorhanden.

Zur Untersuchung übergiesst man den nach § 572 erhaltenen Bodensatz mit Wasser. Es löst sich der Blutfarbstoff, während eine

gallertige Gerinnung ungelöst bleibt. Diese lässt sich durch Schütteln der wässrigen Flüssigkeit mit Aether noch besser abscheiden und dann durch Filtration entfernen. Man erhält so einen Rückstand, eine wässrige und eine ätherische Lösung.

Der Rückstand löst sich grösstentheils leicht in verdünnter Salzlösung, auch in 0,1 pCt. Salzsäure enthaltendem Wasser, gehört also zu

Globulin. den Globulinen.

Der bei der Untersuchung von kernhaltigen Vogelblutkörperchen in reichlicher Menge erhaltene wasser- und ätherunlösliche Körper besteht aus einer Verbindung von Histon (§ 322) und wahrscheinlich Nucleïnsäure.

Die ätherische Lösung enthält Cholesterin, Lecithin und etwas gelben Farbstoff. Eine nicht geringe Quantität Lecithin bleibt jedoch in der wässrigen Lösung und kann aus derselben nur durch Fällen mit viel warmem Alkohol unter Zersetzung des Blutfarbstoffs erhalten werden.

Cholesterin. Zum Nachweis des Cholesterins wird ein Theil des Aetherrückstandes in der S. 85 angegebenen Weise verseift und der Rückstand des ätherischen

Lecithin. Auszugs der Seifenlösung nach S. 260 geprüft. Zum Nachweis des Lecithins (§ 139) prüft man einen andern Theil nach § 56 auf Phosphor.

Blutfarbstoff. In der wässrigen Lösung findet sich der Blutfarbstoff (§ 355 ff. und § 577). Wurde nicht sehr viel Wasser angewendet, so kommt es bei der Untersuchung der rothen Blutkörperchen von manchen Thieren, z. B. von Meerschweinchen, Ratten, auch Hunden u. s. w., direct zu einer Abscheidung von Oxyhämoglobinkrystallen.

575. **Untersuchung der weissen Blutkörperchen (Leukocyten).** Die weissen Blutkörperchen sind specifisch leichter als die rothen. Bei der Senkung im ungerinnbar gemachten Blut lagern sie sich desshalb als dünne weisse Schicht über dem aus rothen Blutkörperchen bestehenden Bodensatz ab. Da es indessen bisher nicht gelang, sie in einer für die Untersuchung nöthigen Menge zu isoliren, hat ihre Zusammensetzung noch nicht festgestellt werden können.

Nur auf indirectem Wege hat sich in dieser Beziehung Einiges ermitteln lassen. So beobachtete Kossel, dass ein mikroskopisch nachweisbar vermehrter Gehalt des Blutes an weissen Blutkörperchen Hand in Hand mit einer Vermehrung der Nucleoproteïde geht und schloss daraus auf die Anwesenheit von diesen Proteïnstoffen in den Leukocyten. Ferner müssen die Leukocyten Lecithin enthalten, da man diese Substanz in reichlicher Menge in der Speckhaut (§ 568), die der mikroskopischen Untersuchung nach reich an weissen Blutkörperchen ist, fand. Auch die Untersuchung der bei Leukämikern während der Agonie im Herzen sich bildenden Fibringerinnsel, die wegen des Reichthums an Leukocyten milchig oder eitrig trübe erscheinen, würde einigen Aufschluss über die Zusammensetzung der weissen Blutkörperchen geben können.

Da die Eiterkörperchen zum allergrössten Theil mit den weissen Blutkörperchen identische Zellen darstellen, so können die für jene gewonnenen Resultate (siehe „Untersuchung des Eiters“ S. 508) auf die Leukocyten des Blutes übertragen werden.

Nachweis und Bestimmung der einzelnen Bestandtheile im Blute.

576. Die einzelnen Bestandtheile des Blutes ausser Proteïnstoffen werden nach den Angaben des vorigen Abschnittes („Untersuchung von serösen Flüssigkeiten“ S. 469) nachgewiesen und bestimmt. Die Bestimmung der Gesammt-Proteïnstoffe geschieht nach § 560. Dabei ist zu bemerken, dass das dem Blutfarbstoff zugehörige Eisenoxyd, welches mit der Asche abgezogen worden ist, wieder hinzuaddirt werden muss. Zu diesem Zweck wird in einer besonderen Portion Blut eine Eisenbestimmung nach § 428 und § 436 ausgeführt. Der Blutfarbstoff wird nach § 577 nachgewiesen und nach § 578 bestimmt, der Fibringehalt nach § 584 ermittelt. Zum Nachweis des Glykogens verfährt man nach Huppert[1]).

Nachweis des Blutfarbstoffs im Blute.

577. Der Nachweis geschieht auf spectroskopischem Wege. Bei allmählicher Verdünnung des mit Luft geschüttelten Blutes mit Wasser beobachtet man mit dem Spectroskop die § 359 beschriebenen Erscheinungen und nach hinreichendem Wasserzusatz treten die beiden charakteristischen Streifen des Oxyhämoglobins auf, die erst bei sehr grosser Verdünnung verschwinden. Die Umwandlung des Blutfarbstoffs in Hämoglobin, Kohlenoxydhämoglobin, Methämoglobin, die Zersetzung unter Bildung von Hämatin (Hämochromogen) und Hämatoporphyrin lässt sich im Blut ebenso gut wie in einer reinen Blutfarbstofflösung bewerkstelligen und bei passender Verdünnung spectroskopisch nachweisen (Spectraltafel).

1. Versetzt man eine verd. Blutlösung mit einem Reductionsmittel, z. B. Schwefelammonium oder Stokes'sche Lösung (Anh.), so zeigt sich im Spectrum der Streifen des Hämoglobins (§ 359), der beim Schütteln mit Luft den beiden Streifen des Oxyhämoglobins Platz macht, um bei ruhigem Stehen alsbald wieder zu erscheinen. Beim ruhigen Stehen geht die Umwandlung des Oxyhämoglobins in Hämoglobin auch spontan vor sich.

2. Leitet man durch eine verd. Blutlösung Kohlenoxyd (oder Leuchtgas), so erscheint das Spectrum des Kohlenoxydhämoglobins, das auf Zusatz von einem Reductionsmittel nicht verschwindet (§ 360).

3. Auf Zusatz von einigen Tropfen einer conc. frisch bereiteten Ferricyankaliumlösung zu einer nicht zu verdünnten Blutlösung erscheint das Spectrum des Methämoglobins (§ 363), das durch ein Reductionsmittel in das Spectrum des Hämoglobins verwandelt wird; letzteres geht beim Schütteln mit Luft in das Spectrum des Oxyhämoglobins über.

4. Beim Kochen von mit Wasser versetztem Blut mit Natronlauge erkennt man sofort oder nach weiterer Verdünnung mit Wasser das Spectrum des Hämatins (§ 254) in alkalischer Lösung, das auf Zusatz eines Re-

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 18. 151. (1894.)

ductionsmittels in das charakteristische Spectrum des Hämochromogens übergeht (§ 253).

5. Versetzt man conc. Schwefelsäure tropfenweise und unter Umschütteln mit Blut bis zur weinrothen Färbung, so zeigt sich bei der Untersuchung das Spectrum des Hämatoporphyrins (§ 256).

6. Man trägt in auf dem Wasserbade erhitzten Eisessig allmählich unter Umschütteln etwa den 4. Theil seines Volumens Blut ein und erhitzt noch eine Stunde. Der bis zum nächsten Tage abgeschiedene Bodensatz besteht aus Häminkrystallen (§ 255).

Nachweis im eingetrockneten Blute.

7. Eine nicht zu verdünnte Lösung von eingetrocknetem Blut zeigt das Spectrum des Methämoglobins (siehe 3). Behandelt man sie nach 4 und nach 5, so erhält man das Spectrum des Hämochromogens und des Hämatoporphyrins.

Teichmann'sche Häminprobe.

Aus sehr kleinen Mengen eingetrockneten Blutes lassen sich noch Häminkrystalle (siehe 6) erhalten, wenn man in folgender Weise verfährt: Man verreibt eine kleine (etwa stecknadelkopfgrosse) Menge eingetrockneten Blutes mit einer Spur Kochsalz auf dem Objectträger, fügt einen Tropfen Eisessig hinzu, legt das Deckglas auf und stellt durch Reiben des Deckglases auf dem Objectträger eine völlig homogene Masse her. Jetzt hält man das Reagensglas ruhig dicht über eine kleine Flamme, bis der Eisessig eben Blasen wirft (aber nicht länger), ersetzt den verdunsteten Eisessig durch neuen und betrachtet das Präparat mikroskopisch. Diese von Teichmann angegebene Probe dient zum gerichtlichen Nachweis kleiner Mengen eingetrockneten Blutes.

Diese Probe, welche für an der Luft eingetrocknetes, unzersetztes und von anderen Bestandtheilen freies Blut sehr zuverlässig ist, kann versagen oder zweifelhaft ausfallen, wenn das Blut bis zur Trockne eingedampft war, wenn das trockene Blut bis auf 140° oder höher erhitzt oder in dünner Schicht längere Zeit dem Sonnenlicht ausgesetzt war, wenn das Eintrocknen bei Gegenwart von Salz- oder Salpetersäure oder von Rost stattgefunden hatte und unter manchen anderen Bedingungen[1]).

Spectroskopischer Nachweis sehr kleiner Mengen eingetrockneten Blutes.

In diesen Fällen ist der spectroskopische Nachweis zu versuchen und zu dem Zweck ein wässriger Auszug (a) des zu untersuchenden Materials herzustellen. Ist derselbe nicht gefärbt, so löst man in Alkali (b).

a) Ist die Menge des eingetrockneten Blutes keine zu geringe, so extrahirt man mit wenig Wasser, filtrirt durch ein kleines Filter und untersucht spectroskopisch, ob das Spectrum des Methämoglobins sichtbar und ob die Umwandlung in Hämoglobin und Oxyhämoglobin (vergl. 3) und die weitere Umwandlung in Hämochromogen (durch Zufügen eines Tropfens starker Natronlauge und Stehenlassen oder mässiges Erwärmen vergl. 4) gelingt. Bei Anwesenheit von sehr wenig Material bringt man die zu untersuchende Substanz in die Vertiefnng eines hohlgeschliffenen Objectträgers, fügt ein wenig Wasser hinzu, umzieht die Vertiefung mit Vaselin und legt ein Deckglas auf. Der abgeschlossene Raum soll gar keine oder nur wenig Luft enthalten. Wenn jetzt bei der spectroskopischen Prüfnng des auf weissem Papier liegenden Präparates das Methämoglobinspectrum nicht deutlich zu erkennen ist, so überlässt man es längere Zeit

---

[1]) Vergl. Lewin u. Rosenstein, Arch. f. path. Anat. **142**. 134. (1895.)

bei warmer Temperatur der Fäulniss und prüft dann, ob das Spectrum des Hämoglobins und nach Lüftung des Deckglases das Spectrum des Oxyhämoglobins sichtbar ist, ferner auch, ob auf Zufügen kleiner Mengen Natronlauge und Schwefelammonium bei wieder aufgelegtem Deckglas nach einiger Zeit das Spectrum des Hämochromogens entsteht. Die Untersuchung auf weissem Untergrunde ist oft weniger zweckmässig als diejenige auf dem Tisch des Mikroskopes, wenn das Object von unten her mittelst des Spiegels hell beleuchtet und (nach Entfernung von Tubus mit Ocular und Objectiven) von oben mit dem Browning'schen Spectroskop (§ 26) betrachtet wird.

b) Tritt mit Wasser keine Lösung von Farbstoff ein, so behandelt man mit verdünnter Natronlauge. Die rothe, in dünner Schicht grüne Flüssigkeit wird auf Zusatz von Schwefelammonium bald schön hellroth und zeigt das Spectrum des Hämochromogens. Dasselbe verschwindet beim kurzen Schütteln mit Luft und erscheint beim ruhigen Stehen wieder.

Bestimmung des Blutfarbstoffs im Blute.

578. Die quantitative Bestimmung kann auf spectroskopischem und colorimetrischem Wege ausgeführt werden.

579. **Spectroskopische Bestimmung.** Dieselbe wurde zuerst von Vierordt angewendet und geschieht am besten mit Hülfe des Spectrophotometers von Hüfner[1]). Sie liefert sehr genaue Werthe.

580. **Colorimetrische Bestimmung.**

Princip. Eine passend verdünnte wässrige Lösung krystallisirten Blutfarbstoffs von bekanntem Gehalt wird in geeigneter Dicke der Schicht mit der zu untersuchenden Flüssigkeit von derselben Schichtdicke colorimetrisch verglichen und eine der Flüssigkeiten so lange mit gemessenen Mengen Wasser verdünnt, bis beide die gleiche Farbenintensität zeigen. Für die Genauigkeit dieser Vergleichung ist es von grosser Bedeutung, dass beide Lösungen unmittelbar neben einander gesehen werden. Dieses ist erreicht in den beiden Instrumenten von Hoppe-Seyler[2]).

Erforderliche Apparate und Lösungen. 1. Hoppe-Seyler's colorimetrische Doppelpipette oder Hoppe-Seyler's colorimetrische Doppelpipette mit Albrecht-schem Glaswürfel. 2. Eine Normallösung von Kohlenoxydhämoglobin. Die Apparate und die Herstellung der Lösung werden im Folgenden beschrieben.

a) Hoppe-Seyler's colorimetrische Doppelpipette. Fig. 14 stellt sie etwas von der Seite gesehen, Fig. 15 gerade von vorn dar, zwischen beiden eine Durchschnittsskizze. Colorimetrische Doppelpipette.

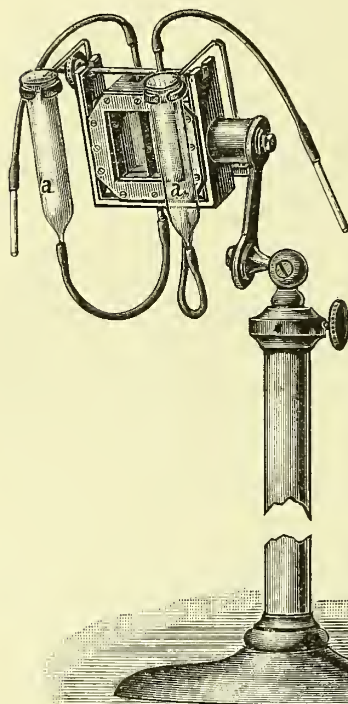
Sie besteht im Wesentlichen aus zwei Kammern, einer rechten und einer linken, deren lichte Weite (von vorn nach hinten) 5 mm beträgt. Die Kammer der einen Seite liegt hinter, die der andern Seite vor einem

---

[1]) Zeitschr. f. physik. Chem. **3**. 562. (1889.)
E. Albrecht, Anleitung z. Gebr. d. Hüfner'schen Spectrophotometers. Tübingen 1892.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **16**. 505. (1892.). G. Hoppe-Seyler, Ebendas. **21**. 461. (1896.), H. Winternitz, Ebendas. **21**. 468. (1896.)
Die Apparate sind ausgeführt und werden angefertigt vom Universitätsmechanikus Albrecht in Tübingen.

Glaskörper von 5 mm Dicke (siehe die mittlere Figur). Die Begrenzung der Kammern nach vorn und hinten geschieht durch drei planparallele, geschliffene und polirte Glasplatten, von denen die mittlere beiden Kammern gemeinsam ist, die Begrenzung nach der einen Seite durch den Glaskörper, nach der andern Seite und nach oben und unten durch zwei Messingrahmen, welche vermittelst Schrauben und Muttern die Glasplatten und Glaskörper an einander drücken. In jede Kammer mündet oben und unten je ein Rohr, über welche Kautschukschläuche gezogen sind. Die unteren engen Schläuche sind mit den Gläschen *a*, *a* verbunden, welche in am Apparat befestigte



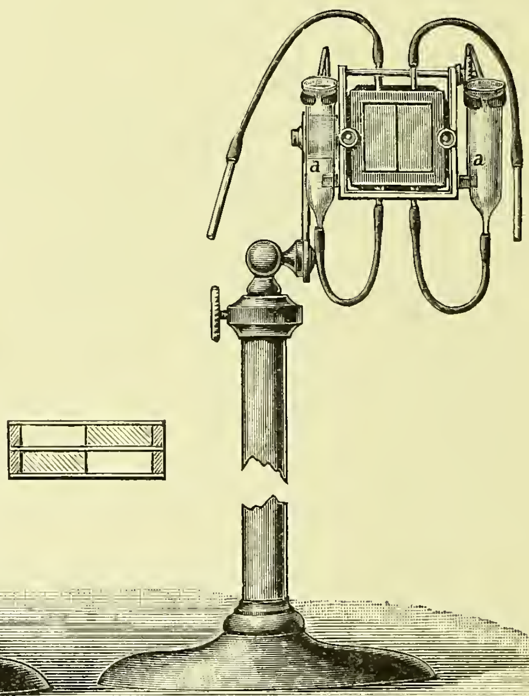


Fig. 14. Fig. 15.

Ringe eingehängt werden können (Fig. 14 u. 15). Die ganze Pipette ist an einem Stativ angebracht. Die beschriebene Einrichtung bringt es mit sich, dass zwei in den Kammern befindliche Flüssigkeiten neben einander, nur durch eine feine Linie von einander getrennt, gesehen werden.

Colorimetrische Doppelpipette mit Albrecht'schem Würfel.

b) Hoppe-Seyler's colorimetrische Doppelpipette mit Albrecht-schem Würfel. Dieser Apparat besteht aus einer Combination einer Doppelpipette (Fig. 16, 3) mit dem Albrecht'schem Würfel (Fig. 16, 2), einem Collimator- und Fernrohr. Fig. 16, 1 stellt einen Vertikalschnitt des

ganzen Instrumentes in $^1/_4$ natürlicher Grösse, Fig. 16, 3 die Doppelpipette und Fig. 16, 2 den Albrecht'schen Würfel in halber Grösse dar.

Das Fernrohr *F* und das Collimatorrohr *C* sind in messingner Hülse so verschraubt, dass sie ein gerades Rohr darstellen; dies Rohr ist auf einem starken gusseisernen Dreifuss montirt und um eine horizontale und eine verticale Axe drehbar. Am Collimatorrohr ist in einem geschwärzten messingnen Gehäuse ein auf 4 Seiten geschliffener Glaswürfel *G* (Fig. 16, 2) so befestigt, dass 2 diagonal gegenüberliegende Kanten desselben in der optischen Axe des Fernrohrs stehen, und dass die dem Fernrohr zugekehrte Kante zugleich in der Brennweite der Collimatorlinse liegt.

Die Doppelpipette *P* ist aus einem rechteckigen, 5 mm dicken Messingstück hergestellt. Die eingebohrten Kammern sind durch einen 3,5 mm breiten Steg von einander getrennt; in jede dieser Kammern münden zwei Schlauchansätze (Fig. 16, 3). Mit den unteren Ansatzstücken sind durch Gummischläuche Glasröhrchen verbunden; dieselben fehlen in der Abbildung, ihre Anordnung ist aber aus Fig. 14 u. 15 ersichtlich. Das Gehäuse des

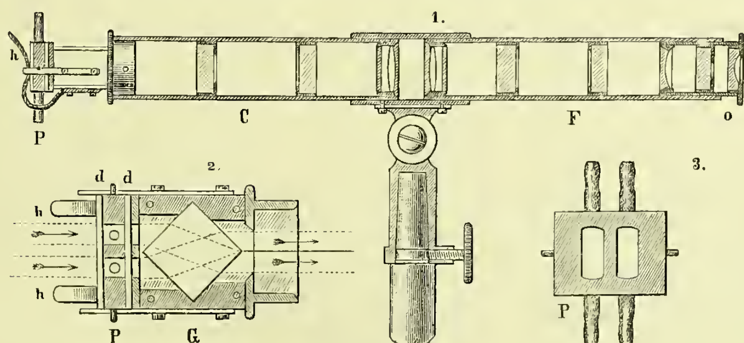


Fig. 16.

Flintglaswürfels *G* ist nach vorn mit einer genau eben geschliffenen Flansche abgeschlossen, in welcher sich zwei den Kammern der Doppelpipette entsprechende Oeffnungen befinden. Vor dieser Flansche wird die mit zwei planparallelen Gläsern *dd* (Fig. 16, 2) bedeckte Pipette mit den Federn *hh* angeklemmt und zugleich durch die am Würfelgehäuse angeschraubten messingnen Lamellen derart fixirt, dass sich die Kammern der Doppelpipette und die Oeffnungen in der Flansche genau decken. Das Licht, welches durch die beiden 3,5 mm von einander entfernten Kammern der Pipette einfällt, wird von dem Glaswürfel *G*, wie aus Fig. 16, 2 ersichtlich, so gebrochen, dass die Kante des Glaswürfels die Grenzen der beiden Kammern bildet. Das Ocular *o* des Fernrohrs *F* ist mit einer Blendung mit quadratischer Oeffnung abgeblendet. Wird nun das Fernrohr scharf auf die Kante des Würfels eingestellt, so erscheint das Quadrat der Ocularblendung durch eine feine Linie in 2 oblonge Hälften getheilt. Das Fern-

rohr kehrt die vom Glaswürfel gewendeten Bilder der Pipettenkammern wieder um und es entspricht nun die rechte Hälfte des Ocularquadrats dem Lichte, welches durch die rechte Kammer der Pipette eingefallen ist und die linke Hälfte dem Lichte der linken Kammer.

Da die beiden Hälften des Ocularquadrats, wie bereits bemerkt, scharf zusammenstossen, so ist eine ausserordentlich genaue Vergleichung der Intensität des Lichtes, welches durch die beiden mit Farbstofflösungen gefüllten Kammern der Doppelpipette eingefallen ist, möglich.

Nach der Benutzung wird die Pipette vom Apparat entfernt, zerlegt, gereinigt und wieder eingeklemmt, um den Glaswürfel vor Staub zu schützen.

Herstellung der Normallösung.

581. Herstellung der Normallösung. Man bereitet eine concentrirte, wässrige Lösung der nach § 356 gewonnenen Oxyhämoglobinkrystalle, sättigt sie mit Kohlenoxyd und bestimmt in einigen Portionen von 15 bis 20 ccm durch Abdampfen, Trocknen und Wägen des Rückstandes den Procentgehalt an Blutfarbstoff. Von dieser Flüssigkeit bringt man in eine Reihe von auf der einen Seite ausgezogenen und zugeschmolzenen Glasröhren ungefähr je 6 ccm ein, leitet nochmals Kohlenoxyd durch und schmilzt zu. Der Inhalt dieser Röhren hält sich beliebig lange unverändert. Für einen Versuch öffnet man eine Röhre, giesst die Flüssigkeit aus, misst sie und verdünnt sie mit gemessener Menge kohlenoxydhaltigen Wassers so weit, dass eine 0,2—0,3 procentige Lösung von genau bekanntem Gehalt an Blutfarbstoff entsteht. Bei Benutzung der Doppelpipette mit Albrecht-schem Würfel stellt man wegen der Vergrösserung durch die Linsencombinationen zweckmässig eine 0,25—0,32 proc. Lösung her. Eine solche Normallösung reicht für zahlreiche Bestimmungen aus, ist aber nicht gut haltbar.

Ausführung der Bestimmung.

582. Ausführung. Man bringt in ein mit eingeriebenem Stopfen versehenes 10 ccm-Maasskölbchen zunächst 1—2 ccm einer schwach alkalischen Salzlösung (z. B. 5 proc. Kochsalzlösung, die auf 100 ccm etwa 5 Tropfen einer $^{n}/_{10}$ Natronlauge enthält), wägt, fügt mit einer Pipette mehrere Tropfen des zu untersuchenden Blutes hinzu, verschliesst mit dem Stopfen und mischt gut durch leises Schwenken des Kölbchens. Nachdem man jetzt abermals gewogen hat, um das Gewicht des zugesetzten Blutes zu erfahren, füllt man bis zur Marke mit destillirtem Wasser auf, mischt gut, leitet Kohlenoxyd ein und filtrirt. Steht nur sehr wenig Blut zur Verfügung z. B. aus einer Wunde am Finger, so nimmt man dasselbe mit graduirtem Capillarrohr auf, misst es hierin (0,04—0,06 ccm), bläst es in ein entsprechend kleines Maasskölbchen ein, spült mit Wasser nach und verfährt wie oben angegeben. Jetzt kann man zur colorimetrischen Vergleichung übergehen.

Nachdem der Apparat so aufgestellt ist, dass das von einer ebenen, matten, weissen Papierfläche reflectirte Tageslicht in ihn hineinfällt, bringt man in das eine der Glasröhrchen aa (Fig. 14 und Fig. 15) die Normal-

lösung, in das andere mit einer Pipette 2 ccm der zu bestimmenden Lösung, lässt die Flüssigkeiten durch Heben der Glasröhrchen in die Kammern eintreten und vergleicht die Farbenintensität. Ist nun die Blutlösung dunkler gefärbt, als die Normallösung (so soll es sein), so fügt man aus einer in $^{1}/_{10}$ ccm getheilten Bürette eine kleine gemessene Menge Wasser, welches vorher in einer Flasche mit Kohlenoxyd geschüttelt ist, hinzu, bewirkt durch wiederholtes Senken und Heben des Gläschens eine völlige Mischung der Flüssigkeit und vergleicht die Farbe mit der Normallösung. Ist die Lösung noch zu dunkel gefärbt, so fügt man aufs neue kohlenoxydhaltiges Wasser aus der Bürette hinzu, mischt, vergleicht und setzt das so lange fort, bis gleiche Farbenhelligkeit der Blut- und Normallösung erreicht ist. Glaubt man an diesem Punkt angekommen zu sein, so thut man gut, ihn durch Zusatz von 1—2 weiteren Wassertropfen nach der anderen Richtung zu überschreiten und durch Eintritt einer Differenz in der Intensität der Färbungen beider Lösungen die Richtigkeit der Beobachtung zu controlliren. Nun wird abgelesen, wie viel Wasser zur abgemessenen Blutlösung zugesetzt worden ist.

Berechnung. Ist p das Gewicht der Blutportion, c der Procentgehalt der verdünnten Normallösung an Blutfarbstoff, v das Volumen, zu welchem p verdünnt werden musste, um gleiche Intensität der Färbung zu erreichen, so ist der Procentgehalt des Blutes an Blutfarbstoff $= \frac{v \cdot c}{p}$.

Steht nur sehr wenig Blut zur Verfügung und ist dasselbe sehr arm an rothen Blutkörperchen, so kann der Fall eintreten, dass die Verdünnung des Blutes bereits zu stark geworden ist und bei der Vergleichung in der Doppelpipette die Blutlösung heller erscheint als die verdünnte Normallösung. In diesem Falle wird eine Portion der letzteren abgemessen, mit kleinen gemessenen Mengen Wasser allmählich weiter verdünnt, bis bei der Vergleichung in der Doppelpipette die Farbenintensität derjenigen des verdünnten Blutes gleich geworden ist. Aus der stattgefundenen Verdünnung berechnet man dann den Procentgehalt dieser weiter verdünnten Normallösung an Kohlenoxydhämoglobin und dann in der obigen Weise den Gehalt des Blutes an diesem Farbstoff.

Die colorimetrische Doppelpipette liefert gute Resultate, sie leistet Alles, was ein colorimetrisches Verfahren überhaupt zu leisten vermag.

583. Colorimetrische Bestimmung nach Fleischl-Miescher. Bestimmuug nach Fleischl-Miescher. Der in der Klinik vielfach für die Zwecke der Oxyhämoglobinbestimmung gebrauchte Apparat von Fleischl-Miescher[1]) hat den Vorzug, dass er weder eine Normallösung (§ 581) noch eine Sättigung des Blutes mit Kohlenoxyd erfordert. Das Princip des Apparates ist folgendes: In der einen Hälfte einer durch eine senkrechte Scheidewand getheilten Kammer befindet

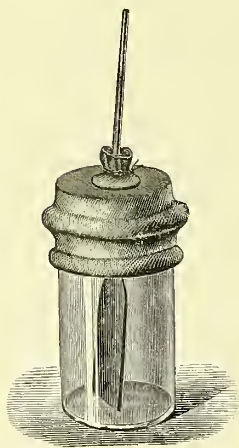
[1]) Veillon, Arch. f. exp. Path. und Pharm. 39. 385. (1897.)

sich eine Blutlösung von bekannter Verdünnung, in der anderen destillirtes Wasser. Unter dem Wasser wird ein Keil von Rubinglas verschoben, bis bei der Betrachtung von oben nach unten Farbengleichheit erreicht ist. An einer Skala kann der Blutfarbstoffgehalt abgelesen werden.

Ueber die Genauigkeit der Resultate, die man mit diesem Apparate erhält, sind die Ansichten getheilt. Die Schwierigkeit besteht darin, dass eine völlige Farbenübereinstimmung beim Vergleich mit dem Rubinglaskeil nicht immer zu erreichen ist. Vergl. indessen u. a. die Arbeit von Franz Müller[1]), in der das Instrument sehr günstig beurtheilt wird.

Bestimmung des Fibringehaltes im Blute oder Plasma.

584. Für diesen Zweck benutzt man mit Vortheil ein kleines Becherglas, welches mit einer Kautschukkappe geschlossen ist (Fig. 17). Durch einen kleinen Röhrenansatz in der Mitte dieser Kappe steckt man den Stiel eines ruderförmigen Fischbeinstäbchens, so dass bei aufgesetzter Kappe der untere breite Theil desselben fast den Boden des Becherglases berührt.


Fig. 17.

Man wägt den so vorbereiteten und getrockneten Apparat, nimmt den Kautschucküberzug ab, fängt eine Portion von 10—40 ccm des zu untersuchenden Blutes darin unmittelbar aus der Ader auf (zur Bestimmung im Plasma hebt man die entsprechende Portion aus dem im Eis stehenden Plasma mit einer Pipette hinein), zieht die Kautschukkappe über, schlägt nun das Blut etwa 10 Minuten lang und wägt nach dem völligen Erkalten. Man ist auf diese Weise im Stande, das Schlagen des Blutes ohne Verlust durch Verdunstung auszuführen. Nachdem das Gewicht des Blutes ermittelt ist, hebt man den Kautschuküberzug ab, füllt das Becherglas fast ganz mit Wasser, rührt stark um und lässt das Fibrin sich absetzen; die ziemlich klare Flüssigkeit wird darauf in ein anderes Becherglas abgegossen und die Behandlung mit Wasser event. wiederholt. Das Fibrin wird dann mit einer neuen Portion Wasser, dem einige Tropfen Kochsalzlösung zugesetzt sind, auf ein kleines gewogenes Filter gebracht und mit reinem Wasser so lange ausgewaschen, bis die ablaufende Flüssigkeit völlig farblos und das Fibrin selbst höchstens hellrosaroth gefärbt erscheint. Mit einer reinen Pincette gelingt es leicht, Fibrinfasern, die am Fischbeinstäbchen haften, abzunehmen und den übrigen auf dem Filter zuzufügen. Schliesslich wäscht man das Fibrin noch einige Male mit siedendem Alkohol und mit Aether, um eingeschlossenes Fett, Lecithin, Cholesterin zu lösen und zu entfernen, trocknet

[1]) Arch. f. Physiol. Physiol. Abthlg. 1901. S. 443.

dann bei 110 bis 120° im Luftbade und wägt nach dem Erkalten über Schwefelsäure.

Der Zusatz des Chlornatriums zu der zweiten oder dritten Portion des Waschwassers hat vor Allem den Zweck, die Flüssigkeit besser filtrirbar zu machen. Ausserdem bewirkt es auch die Lösung des grösstentheils aus den Blutkörperchen stammenden Globulins, wenn auch die Menge bei Säugethierblut eine so kleine ist, dass sie kaum Fehler bedingen kann.

Bei Vogel-, Amphibien- und Fischblut empfiehlt es sich, zum Auswaschen des Fibrins 1—3 proc. Glaubersalzlösung zu verwenden, bis die Blutkörperchen fast ganz entfernt sind, weil die Kerne sich sehr schwer durch Decantiren mit Wasser vom Fibrin trennen lassen. Erst zuletzt wendet man auch hier Wasser und endlich heissen Alkohol und Aether an.

Absolut genaue Resultate liefert die angegebene Bestimmungsmethode des Fibrins nicht, aber immerhin recht brauchbare. Es ist wichtig, dass man so lange wäscht und decantirt, bis die Flüssigkeit über dem Fibrin fast völlig klar bleibt und erst dann das Fibrin aufs Filter bringt und mit Wasser weiter wäscht. Bringt man das Fibrin zu früh auf das Filter, so filtrirt die Flüssigkeit sehr langsam und es kann Fäulniss vor der Beendigung eintreten. Verfährt man nach diesen Vorschriften, so erhält man gleichmässige und befriedigende Resultate und jede Bestimmung ist in wenigen Stunden bis auf das Trocknen des Fibrins beendet.

Bestimmung des Plasmas, des Serums, der Blutkörperchen im Blute.

585. Für diese Bestimmung sind von Hoppe-Seyler folgende drei Verfahren I, II und III angegeben worden:

Verfahren I ist nur für Blut anwendbar, das langsam gerinnt und dessen Körperchen sich schnell senken, also z. B. für Pferdeblut oder für Blut von Menschen, welche an Entzündungskrankheiten leiden.

Verfahren II ist verhältnissmässig leicht ausführbar und genau, aber nur dann anwendbar, wenn die Blutkörperchen sich in dem geschlagenen und mit verdünnter Salzlösung vermischten Blut beim Centrifugiren gut absetzen. Sie eignet sich besonders für Vogel-, Amphibien- und Fischblut bei Anwendung von Natriumsulfatlösung. Bunge[1]) und Abderhalden[2]) haben sie mit gutem Erfolg beim Pferde-, Rinder-, Schweine-, Schaf-, Hunde-, Kaninchen-, Ziegen- und Katzenblut angewendet.

Verfahren III eignet sich auch für solche Blutarten, deren Blutkörperchen sich nicht gut absetzen, ist aber weniger genau als Verfahren II, da colorimetrische Bestimmungsmethoden zur Anwendung kommen.

586. **Verfahren I.**

Princip. Das Fibrin ist als ein Stoff anzusehen, welcher ausschliess-

[1]) Zeitschr. f. Biol. **12**. 191. (1876.)

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **23**. 521. (1897.) **25**. 65. (1898.)

lich oder so gut wie ausschliesslich aus dem Plasma stammt. Die Spuren, welche etwa von den Blutkörperchen geliefert werden, sind so gering, dass sie vernachlässigt werden können. Bestimmt man nun einerseits in einer gewogenen Menge Blut, andererseits in einer gewogenen Menge Plasma das Fibrin, so ist aus diesen beiden Werthen der Gehalt des Blutes an Plasma, an Serum und an Körperchen leicht zu berechnen.

Ein Nachtheil der Methode liegt darin, dass wegen des geringen Fibringehaltes des Blutes und des Plasmas in der Fibrinbestimmung gemachte Fehler bei der Berechnung verhundertfacht werden.

Ausführung. Man bestimmt in einer Portion Blut (10—40 ccm) den Fibringehalt nach § 584. Eine zweite grössere Portion wird in einem cylindrischen, in Eis stehenden Gefässe aufgefangen. Nachdem die Blutkörperchen sich hinreichend gesenkt haben, entnimmt man mit einer abgekühlten Pipette ungefähr dieselbe Menge des klaren Plasmas und ermittelt in ihm ebenfalls den Fibringehalt nach § 584.

Berechnung. Rechnet man die erhaltenen Werthe auf 100 g Blut bezw. Plasma um und bezeichnet man mit:

a	den	Procentgehalt	des Blutes		an Fibrin
b	„	„	„	Plasmas	„ „
x	„	„	„	Blutes	„ Plasma
y	„	„	„	„	„ Blutkörperchen
z	„	„	„	„	„ Serum,

so ist $x = \frac{a \cdot 100}{b}$ $y = 100 - x$ $z = x - a.$

587. **Verfahren II.**

Princip. Die Methode beruht auf der experimentell begründeten Annahme, dass bei der Trennung von Plasma und Blutkörperchen durch verdünnte Salzlösung in der § 572 angegebenen Weise keine Proteïnstoffe aus den Körperchen austreten und besteht in der Ermittelung und rechnerischen Verwerthung folgender Daten:

1. Gehalt des Blutes an Proteïnstoffen.
2. Gehalt des von den Bestandtheilen des Serums befreiten Blutes an Proteïnstoffen.
3. Gehalt des Blutes an Fibrin.
4. Gehalt des zugehörigen Serums an Proteïnstoffen.

Ausführung. Es werden vier einzelne Portionen Blut aufgefangen und getrennt von einander untersucht.

1. Portion. Man fängt 5—10 ccm in einem Becherglase, das zusammen mit einem Uhrglase vorher gewogen war, auf, wägt bei aufgelegtem Uhrglase nach dem Erkalten und bestimmt nach § 560 die Proteïnstoffe*).

*) Unter der Asche, welche nach den Angaben des § 560 abgezogen wird, befindet sich auch das dem Blutfarbstoff zugehörige Eisenoxyd. Es ist nicht nöthig, dieses besonders zu bestimmen und dem Gewichte der Proteïnstoffe wieder zuzuaddiren, da die

2. Portion. Man fängt 5—10 ccm Blut in einem gewogenen und dann auf Körpertemperatur erwärmten Fibrinbestimmungsapparat (§ 584) auf, bringt das Blut durch Schlagen zur Gerinnung, wägt nach dem Erkalten und mischt die Flüssigkeit in einem grösseren Becherglase mit dem zehnfachen Volumen einer Mischung von 1 Th. gesättigter Natriumchlorid- oder Natriumsulfatlösung und 9 Th. Wasser. Man bringt jetzt die Flüssigkeit quantitativ in die Gläser einer Centrifuge, centrifugirt 1—2 Stunden, giesst die überstehende Flüssigkeit völlig klar ab, mischt den zurückbleibenden Blutkörperchenbrei mit derselben Salzlösung, centrifugirt wieder, giesst von Neuem ab und verfährt nochmals in derselben Weise. Nachdem durch diese Behandlung die serösen Bestandtheile völlig entfernt worden sind, werden die in den einzelnen Gläsern zurückbleibenden Massen, welche aus Blutkörperchen, Fibrin und den Resten der Waschflüssigkeit bestehen, mit Hülfe von (möglichst wenig) Wasser quantitativ in einem Becherglase vereinigt, durch Alkohol gefällt und zur Bestimmung der Proteïnstoffe*) weiter nach § 560 behandelt.

3. Portion. Man fängt 10—40 ccm Blut in einem Fibrinbestimmunngsapparat auf und ermittelt den Fibringehalt nach § 584.

4. Portion. Man fängt Blut in einer auf Körpertemperatur erwärmten Schale auf, bedeckt die Schale und lässt ruhig stehen. Von dem nach eingetretener Gerinnung allmählich aus dem Blutkuchen ausgetretenen Serum wägt man 5—10 ccm in einem Becherglase ab und bestimmt die Proteïnstoffe nach § 560.

Berechnung. Berechnet man die in 1, 2 und 3 erhaltenen Werthe auf 100 g Blut, den in 4 erhaltenen Werth auf 100 g Serum und bezeichnet man mit:

a	den Procentgehalt	des	Blutes	an	Proteïnstoffen	(Resultat von 1)
b	„	„	„	„	Fibrin + Proteïnstoffen der Blutkörperchen	(„ „ 2)
c	„	„	„	„	Fibrin	(„ „ 3)
d	„	„	Serums	„	Proteïnstoffen	(„ „ 4)
x	„	„	Blutes	„	Serum	
y	„	„	„	„	Plasma	
z	„	„	„	„	Blutkörperchen,	

so ist $x = \frac{a-b}{d} \cdot 100$ $\quad y = x + c \quad$ $z = 100 - (x + c)$.

588. **Verfahren III.**

Princip. Die Methode stimmt im Wesentlichen mit der vorhergehenden überein, nur sind die der Rechnung zu Grunde zu legenden Werthe z. Th. andere. Es wird festgestellt:

---

in Portion 1 und 2 erhaltenen Gewichtsprocente nur für die Berechnung dienen sollen. Bei dieser findet aber eine Subtraction des einen Werthes vom andern statt, wobei das hinzuaddirte Eisenoxyd wieder herausfallen würde.

*) Siehe die *Note S. 502.

1. Der Gehalt des Blutes an Proteïnstoffen.
2. Die relative Menge an Blutfarbstoff und Proteïnstoffen in den Blutkörperchen.
3. Der Gehalt des Blutes an Fibrin und an Blutfarbstoff.
4. Der Gehalt des zugehörigen Serums an Proteïnstoffen.

Die Bestimmung 2 des Verfahrens II, bei welchem eine völlige Abscheidung der Blutkörperchen durch die Centrifuge geschehen muss, ist durch die colorimetrische Bestimmung des Blutfarbstoffs im Blute und durch die Bestimmung der *relativen Menge* an Blutfarbstoff (auf colorimetrischem Wege) und Proteïnstoffen in den Blutkörperchen ersetzt. Infolgedessen eignet sich die Methode auch für solches Blut, dessen Blutkörperchen durch Centrifugiren nicht quantitativ abgeschieden werden können.

Ausführung. Es werden 4 Portionen Blut aufgefangen und einzeln untersucht.

1. *Portion.* Man verfährt genau wie unter § 587, 1 angegeben.

2. *Portion.* 30—50 ccm Blut werden in einem auf Körpertemperatur erwärmten Gefässe aufgefangen, durch Schlagen zur Gerinnung gebracht, mit dem 10fachen Volumen der verdünnten Salzlösung (siehe § 587, 2) vermischt, centrifugirt und weiter wie unter § 587, 2 angegeben zur Entfernung der Bestandtheile des Serums behandelt, nur mit dem Unterschiede, dass ein Verlust an Blutkörperchen beim Abgiessen nicht vermieden zu werden braucht. Der vom Serum völlig befreite, aus Körperchen, Fibrin und Salzlösung bestehende Rückstand wird mit Wasser versetzt, die Flüssigkeit gut umgerührt und dann von dem Fibrin abgegossen. In einem nicht zu kleinen, genau abgemessenen Theile bestimmt man nach § 560 die Proteïnstoffe*), in einem andern nach § 580 den Blutfarbstoff.

3. *Portion.* In 10—40 ccm Blut wird eine Fibrinbestimmung nach § 584 ausgeführt. Die abgegossenen und abfiltrirten wässrigen Waschflüssigkeiten werden gesammelt und zur Blutfarbstoffbestimmung nach § 580 benutzt.

4. *Portion.* Man verfährt genau wie unter § 587, 4 angegeben.

Berechnung. Man rechnet die in 1, 3 und 4 erhaltenen Werthe auf 100 g Blut bezw. Serum um, und die in 2 erhaltenen auf ein bestimmtes Volumen der Flüssigkeit. Bezeichnet man nun mit

a	den Procentgehalt des Blutes an Proteïnstoffen	(Resultat von 1)
b	„ „ „ „ „ Fibrin	(„ „ 3)
c	„ „ „ „ „ Blutfarbstoff	(„ „ 3)
d	„ „ „ Serums „ Proteïnstoffen	(„ „ 4)
e	das Verhältniss von Proteïnstoffen zu Blutfarbstoff in den Blutkörperchen	(„ „ 2)
w	den Procentgehalt des Blutes an Proteïnstoffen der Blutkörperchen	
x	„ „ „ „ „ Serum	
y	„ „ „ „ „ Plasma	
z	„ „ „ „ „ Blutkörperchen,	

*) Siehe die *Note S. 502.

so ist $w = c \cdot e$ $\qquad x = \frac{[a - (w + b)] \cdot 100}{d}$ $\qquad y = x + b$

$$z = 100 - (x + b).$$

Bestimmung der einzelnen Bestandtheile des Blutes in ihrer Vertheilung auf Serum und Körperchen (Gesammtblutanalyse).

589. 1. Man führt eine Analyse nach § 587 oder nach § 588 aus und berechnet den Procentgehalt des Blutes an Serum, an Blutkörperchen und an Fibrin.

Dabei wird der Procentgehalt des Serums an Proteïnstoffen und der Procentgehalt des Blutes an Proteïnstoffen der Blutkörperchen festgestellt, letzterer aber um diejenige Menge Eisenoxyd, welche dem in 100 g Blut enthaltenen Blutfarbstoff entspricht, zu klein. Der Procentgehalt des Blutes an Eisenoxyd ist deshalb in einer besonderen Portion Blut nach § 428 und § 436 zu ermitteln und hinzuzuaddiren.

Die so erhaltene Zahl giebt also an, wie viel Proteïnstoffe in 100 g Blut auf die Blutkörperchen entfallen, während man durch Umrechnung des Procentgehaltes des Serums an Proteïnstoffen auf diejenige Menge Serum, welche in 100 g Blut enthalten ist, erfährt, wie viel Proteïnstoffe in 100 g Blut auf das Serum entfallen.

2. Man macht eine Blutfarbstoffbestimmung nach § 580. Da der Blutfarbstoff ausschliesslich in den Blutkörperchen vorkommt, so giebt der gefundene Procentgehalt gleichzeitig an, wie viel Blutfarbstoff in den in 100 g Blut enthaltenen Blutkörperchen enthalten ist. Zieht man ihn von der in den Blutkörperchen enthaltenen Menge Proteïnstoffe (siehe oben) ab, so erfährt man, wie viel Proteïnstoffe ausser dem Blutfarbstoff in den Blutkörperchen enthalten sind.

3. Man bestimmt in 30—50 ccm Blut nach § 560 Cholesterin, Lecithin, lösliche und unlösliche Salze u. s. w. mit Ausnahme der Proteïnstoffe und rechnet alle diese Werthe auf 100 g Blut um. Sodann führt man dieselbe Bestimmung im Serum aus. Rechnet man nun die für 100 g Serum erhaltenen Mengen der einzelnen Stoffe auf die in 100 g Blut enthaltene Serummenge um, so erfährt man, wie viel Cholesterin, Lecithin u. s. w. in 100 g Blut auf das Serum kommen und zieht man diese einzelnen Werthe von den für 100 g Blut gefundenen ab, so ergiebt sich, wie viel Cholesterin, Lecithin u. s. w. in 100 g Blut auf die Blutkörperchen kommen.

4. Man bestimmt in 40—50 ccm Blut nach § 553 den Procentgehalt an Zucker. Dieser Werth giebt gleichzeitig an, wie viel Zucker in 100 g Blut auf das Serum kommt.

5. Man bestimmt in je einer Menge von 1—2 g nach § 540 den Procentgehalt des Blutes und des Serums an Trockensubstanz. Berechnet man diejenige Menge Trockenrückstand, welche dem in 100 g Blut enthaltenen Serum entspricht, so erhält man die Menge Trockensubstanz,

welche in 100 g Blut auf das Serum entfällt und zieht man diesen Werth + dem Procentgehalt des Blutes an Fibrin von dem Procentgehalt des Blutes an Trockensubstanz ab, so erfährt man, wie viel Trockensubstanz in 100 g Blut auf die Blutkörperchen entfällt.

Bestimmung der Gesammtblut- und der Gesammtblutfarbstoffmenge eines Thieres.

Bestimmung der Gesammtblutmenge.

590. Bestimmung der Gesammtblutmenge im Wesentlichen nach Welcker[1]).

Princip. Die Methode ist eine colorimetrische und beruht darauf, dass der Blutfarbstoff so gut wie ausschliesslich dem Blute angehört (die kleinen, in den Muskeln vorkommenden Mengen bedingen keine wesentliche Ungenauigkeit) und dass bei der Extraction der Organe mit Wasser keine anderen färbenden Substanzen in dieses übergehen. Man entnimmt dem Thier eine Portion Blut, stellt ihr Gewicht fest, entblutet dann das ganze Thier, erschöpft die zerkleinerten Organe mit Wasser, vereinigt Blut und Waschflüssigkeit, misst das Volumen und verdünnt die zuerst entnommene Probe so weit mit gemessenen Mengen Wasser, bis beide Flüssigkeiten bei der colorimetrischen Untersuchung gleich sind. Die Berechnung ist dann einfach.

Ausführung. Nachdem in die Art. carot. und in die Ven. jugul. Canülen eingebunden sind, fängt man am besten in einem Fibrinbestimmungsapparat (§ 584) 30—50 ccm Blut auf, bringt es durch Schlagen zur Gerinnung und wägt wieder. Die Hauptmenge des Blutes lässt man ohne Verlust in ein grösseres Gefäss fliessen und bringt es ebenfalls durch Schlagen zur Gerinnung. Das Gefässsystem wird von der Vene aus mit 0,9 proc. Kochsalzlösung ausgespült (Gscheidlen[2]), bis die Flüssigkeit ungefärbt ausläuft und die Spülflüssigkeit mit dem Blute vereinigt. Nach Eröffnung des Thieres und Entfernung des Darminhaltes und der Gallenblase (oder wenigstens deren Inhalt) zerkleinert man den ganzen Körper, zerstösst die Knochen in einem eisernen Mörser und extrahirt so lange mit neuen Portionen kalten Wassers, als dies noch röthliche Färbung zeigt. Auch diese Waschflüssigkeit wird nach ihrer Filtration durch Leinwand mit der übrigen Flüssigkeitsmenge vereinigt und darauf das Gesammtvolumen der Mischung festgestellt. Ein kleiner Theil wird auf 0° abgekühlt, durch geeignetes Filtrirpapier völlig klar filtrirt und in die eine Kammer der Doppelpipette (§ 580) gebracht. Das geschlagene Blut (siehe oben), dessen Gewicht festgestellt ist, wird mit 9 Gewichtstheilen Wasser verdünnt, eine kleine gewogene Menge der klar filtrirten Lösung wird in die zweite Kammer der Doppelpipette gebracht und so lange mit gemessenen

---

1) Prager Vierteljahrsschr. **4**. 11.
2) Arch. f. d. ges. Physiol. **7**. 530. (1873.)

Mengen Wasser versetzt, bis die Färbung beider Flüssigkeiten in den Kammern des Apparates gleich erscheint.

Berechnung. Bei Farbengleichheit enthalten beide Flüssigkeiten gleichen Procentgehalt an Blut. Da sich dieser für die eine leicht berechnen lässt, da das Gewicht des Blutes und der zugefügten Wassermengen bekannt ist, so ergiebt sich für die andere, deren Volumen gemessen ist, leicht der Gehalt an Blut. Addirt man zu dem so gefundenen Werth das Gewicht der zuerst entnommenen Probe Blut hinzu, so erhält man das Gesammtgewicht des Blutes.

Die Bestimmung ist möglichst schnell und möglichst bei niedriger Temperatur zu Ende zu führen, um eine Zersetzung des Blutfarbstoffs zu vermeiden.

Bestimmung der Gesammtblutfarbstoffmenge.

591. Bestimmung der Gesammtblutfarbstoffmenge.

Man führt 1. eine Bestimmung des Gesammtblutgehaltes nach § 590 und 2. eine Blutfarbstoffbestimmung nach § 580 aus und berechnet aus beiden Werthen den Gesammthämoglobingehalt.

Bestimmung der Gesammtblut- u. Gesammtblutfarbstoffmenge.

592. Combinirte Bestimmung der Gesammtblut- und Gesammtblutfarbstoffmenge nach H. Winternitz[1]).

Princip. Es wird der procentische Blutfarbstoffgehalt des unverdünnten Blutes und der Blutfarbstoffgehalt des gesammten Blutes bestimmt und aus diesen beiden Werthen die Gesammtblutmenge berechnet.

Ausführung. Nach Einführung von Canülen in die Art. carot. und in die Ven. jugul. wird eine gewogene Probe Blut für die Blutfarbstoffbestimmung nach § 580 entnommen und darauf nach den Angaben von § 590 eine wässrige Lösung, welche das gesammte Blut des Thieres enthält, hergestellt, nur mit dem Unterschied, dass man zum Auslaugen der zerkleinerten Organe eine ganz schwache Natronlauge (auf 1000 Th. Wasser etwa 0,04 g Aetznatron) benutzt. Ein kleiner Theil der gemessenen Gesammtflüssigkeit wird mit Kohlenoxyd gesättigt, klar filtrirt und in die eine Kammer der Doppelpipette (§ 580) gebracht; in die andere Kammer kommt eine gemessene Menge einer verdünnten (etwa 0,2 proc.) Kohlenoxydhämoglobinlösung von bekanntem Gehalt (§ 581). Dieser fügt man gemessene Mengen kohlenoxydhaltigen Wassers bis zur Farbengleichheit beider Lösungen hinzu (§ 582, vorletzten Absatz).

Berechnung. Da bei Farbengleichheit beide denselben Procentgehalt an Blutfarbstoff enthalten müssen, so lässt sich die Menge des Farbstoffs in der gemessenen wässrigen Blutlösung leicht berechnen. Zu dem gefundenen Werth ist noch diejenige Menge Blutfarbstoff, welche die für die Hämoglobinbestimmung entnommene Probe Blut enthält, zu addiren, um die Gesammtmenge an Blutfarbstoff zu erhalten. Aus diesem Werth (h)

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **22**. 469. (1897.)

und dem Procentgehalt des Blutes an Blutfarbstoff (p) lässt sich die Gesammtmenge des Blutes in Grammen (x) leicht berechnen: $x = \frac{100 \cdot h}{p}$.

4. Untersuchung des Eiters.

Der Eiter[1]) stellt eine dünn- oder dickflüssige oder auch breiige Masse dar und besteht aus einer Flüssigkeit, dem Eiterserum, in dem morphologische Elemente, die Eiterkörperchen, suspendirt sind.

Das spec. Gewicht schwankt (durchschnittlich ungefähr 1030).

Die Reaction ist gegen Lacmus alkalisch.

593. **Bestandtheile.** Das Serum ist von gelblicher oder grünlicher Farbe und enthält die Bestandtheile des Blutserums, ausserdem gewöhnlich etwas Propepton (Hofmeister). Eine Blaufärbung kann von Pyocyanin (§ 275) herrühren. Die Körperchen enthalten in Wasser lösliche und unlösliche Proteïnstoffe, darunter ein dem Kern zugehöriges Nucleoproteïd (Miescher) und Propeptone (letztere viel reichlicher als das Serum, Hofmeister), Cholesterin, Lecithin, Protagon (Hoppe-Seyler, Kossel), Fette, Glykogen, anorganische Salze (Kalium, Natrium, Calcium, Magnesium, Eisen, gebunden an Salzsäure und Phosphorsäure).

Trennung und Untersuchung von Eiterserum und Eiterkörperchen.

594. **Trennung.** Die Isolirung des Serums gelingt, wenn auch sehr langsam, durch Filtration oder auch durch Centrifugiren. Zur Isolirung der Körperchen verdünnt man den Eiter mit Natriumsulfatlösung (1 Th. gesättigte Salzlösung und 9 Th. Wasser) oder auch mit halbgesättigter Bariumnitratlösung, lässt die Mischung sich absetzen oder centrifugirt sie und wäscht den Bodensatz mit derselben Salzlösung. Chlornatriumlösung ist nicht zu benutzen, da sie die Körperchen in eine zäh-schleimige Masse verwandelt.

595. **Untersuchung des Eiterserums.** Sie erfolgt genau wie die einer serösen Flüssigkeit (§§ 536 ff.). Ueber Pyocyanin siehe § 275.

596. **Untersuchung der Eiterkörperchen.** Man behandelt zunächst mit Wasser, wobei kleine Mengen noch wenig untersuchter Eiweisstoffe in Lösung gehen, filtrirt und kocht den Rückstand mit viel starkem Alkohol aus.

Alkoholisches Filtrat. Beim Abkühlen scheiden sich protagonartige Substanzen ab, aus denen durch Behandlung mit methylalkoholischer Baryt-

---

[1]) Miescher, Verh. d. naturh. Ges. in Basel. **7.** 138.
Derselbe, Med.-chem. Unters. von Hoppe-Seyler. **4.** 441. (1870.)
Hoppe-Seyler, Ebendas. S. 486.
Kossel, Zeitschr. f. physiol. Chem. **7.** 7. (1883.)
Kossel u. Freytag, Ebendas. **17.** 452. (1893.)
Hofmeister, Ebendas. **4.** 274. (1880.)
Huppert, Ebendas. **18.** 144. (1894.)

lösung zwei Cerebroside, Pyosin und Pyogenin, erhalten worden sind (§ 186). Die Mutterlauge wird nach § 556 auf Cholesterin, Lecithin und Fett untersucht.

Rückstand. Denselben verdaut man längere Zeit mit Pepsinsalzsäure (§ 411), filtrirt und wäscht mit Wasser und warmem Alkohol aus. Von den ungelöst bleibenden Kernsubstanzen wird durch verdünnte Sodalösung oder sehr schwache Natronlauge Nucleïn (§ 369) gelöst, das aus der alkalischen Lösung auf Zusatz einer Säure wieder ausfällt. Der in schwachem Alkali unlösliche Theil ist in starkem Alkali und auch in conc. Salzsäure löslich.

Ausser durch Verdauung gelingt die Isolirung der Kernsubstanz auch durch wochenlange Behandlung der Eiterzellen mit sehr verdünnter Salzsäure und nachheriges Schütteln des ungelösten Rückstandes mit Wasser und Aether. Dabei setzen sich die Kerne als feines Pulver am Boden der wässrigen Schicht ab.

Die Untersuchung auf Propeptone geschieht nach § 517, die Untersuchung auf Glykogen nach den Angaben von Huppert.

Genaue Vorschriften für die quantitative Analyse der Eiterkörperchen lassen sich noch nicht geben.

5. Untersuchung der Secrete.

597. Die Secrete sind Producte der Thätigkeit der Drüsenzellen. Sie enthalten neben specifischen Stoffen, welche dem Blute fehlen, auch solche, welche in ihm vorkommen, aber in anderer procentischer Menge. Einige Secrete, z. B. Speichel, Magensaft, sind sehr arm, andere, z. B. Galle, Milch, reich an festen Bestandtheilen.

Untersuchung des Speichels.

Allgemeines.

598. Der gemischte Speichel, wie er aus dem geöffneten Munde bei gesenktem Kopf und Vermeidung des Schlingens ausläuft, stellt ein ungleichförmiges, theils tropfbar-flüssiges, theils zäh-schleimiges Gemenge der Secrete der drei grossen Speicheldrüsen, Gland. parot., Gland. submaxill. und Gland. sublingual., und der zahlreichen kleinen Schleimdrüsen der Mundhöhle dar.

599. **Bestandtheile.** Der gemischte Speichel enthält nur 0,5—1,0 pCt. Trockensubstanz, darunter 0,3—0,4 pCt. organische Stoffe. Unter letzteren sind ausser den § 600 erwähnten organisirten Beimengungen Mucin, Eiweissstoffe, Ptyalin (fehlt bei manchen Thieren, z. B. Hund und Katze), Maltase nachgewiesen worden. Schwefelcyansäure kommt bei Gesunden wohl stets vor (in vermehrter Menge bei Rauchern), sie fehlt dem Speichel von Pferden und Hunden. Harnstoff ist wiederholt bei Gesunden gefunden worden. Die anorganischen Stoffe bestehen aus Alkalien, Kalk und Magnesia, die an Salzsäure, Kohlensäure, Phosphorsäure und ein wenig Schwefelsäure gebunden sind.

Ammoniak ist immer vorhanden, salpetrige Säure findet sich nach Wurster[1]) im frischen Speichel in der Regel nicht, wohl aber Wasserstoffhyperoxyd, welches alsbald aus dem Ammoniak salpetrige Säure bildet.

600. **Allgemeine Eigenschaften.** Das spec. Gewicht schwankt zwischen 1002 und 1008.

Die Reaction ist in der Regel (nach dem Essen stets) gegen Lacmus alkalisch, aber nicht gegen Phenolphtaleïn. Eine gegen Lacmus saure Reaction ist wohl in vielen, wenn auch nicht in allen Fällen auf bacterielle Zersetzungen zurückzuführen; sie wird nach längerem Nüchternsein und besonders bei vielem Sprechen beobachtet.

Klarheit. Beimengungen von abgestossenen Epithelien der Mund- und Zungenschleimhaut und von kleineren rundlichen Gebilden, den sogen. Speichelkörperchen, bedingen eine etwas trübe Beschaffenheit. Beim Stehen an der Luft bildet sich ein feiner Niederschlag oder auch ein feines Häutchen an der Oberfläche: Calciumcarbonat (aus doppeltkohlensaurem Kalk abgeschieden) mit etwas organischer Beimengung.

601. **Pathologische Veränderungen.** In fieberhaften Krankheiten ist die Secretion vermindert, stockt, wie es scheint, oft gänzlich (Trockenheit des Mundes und Rachens, belegte Zunge, veränderter Geschmack u. s. w.). Bei Jod- und bes. bei Quecksilbersalivation enthält der Speichel die Secrete der entzündeten Mund- und Rachenschleimhaut beigemengt und ist in Folge dessen reicher an Eiweiss und anorganischen Salzen (bis über 0,7 pCt.). Bei acuter und chronischer Nephritis ist in der Regel Harnstoff[2]) vorhanden, bei Urämie wurde Harnsäure[3]) (direct durch die Murexidprobe nachweisbar) gefunden. Leucin wurde einmal im Speichel einer Hysterischen nachgewiesen. Bei kachektischen Kranken kann Sulfocyansäure fehlen. Bei Icterus ist nie Gallenfarbstoff und bei Diabetes nie Zucker im Speichel gefunden worden, aber wohl bei dieser letzteren Krankheit oft saure Reaction, die in einem Fall nach Lehmann durch freie Milchsäure bedingt war. Bei fieberhaften Krankheiten und bei Digestionsstörungen ist ebenfalls oft saure Reaction beobachtet worden. Auch hier dürften Mikroorganismen häufig die Ursache sein.

602. **Secrete der einzelnen Speicheldrüsen.**

Parotisspeichel.

Parotisspeichel. Das normale Secret der Parotis, wie man es durch Einführung einer Canüle in den Ausführungsgang oder aus einer Fistel erhält, stellt bei Menschen und Thieren, soweit die Untersuchungen reichen, eine wasserklare Flüssigkeit von völlig dünnflüssiger Beschaffenheit und gegen Lacmus alkalischer Reaction dar. Sie trübt sich beim Stehen unter Abscheidung von Calciumcarbonat. Der Trockenrückstand beträgt 0,7—1,6 pCt. und besteht ungefähr zu gleichen

---

1) Ber. d. d. chem. Ges. **22**. 1901. (1889.)

2) Boucheron, Compt. rend. **100**. 1308. (1885.)

3) Verh. d. 2. Congr. f. inn. Med. Wiesbaden 1883. S. 119.

Theilen aus organischen und anorganischen Stoffen. Unter den organischen findet sich Eiweiss (beim Pferd besonders reichlich, beim Kaninchen fehlt es), kein Mucin, eine oder mehrere flüchtige Fettsäuren, Harnstoff, Ptyalin (fehlt bei manchen Thieren, z. B. Hund), Sulfocyansäure. Die anorganischen Salze sind dieselben wie im gemischten Speichel.

Submaxillarisspeichel. Das Secret der Submaxillardrüse, ebenfalls mittelst eingeführter Canüle oder aus einer Fistel erhalten, ist eine schleimig-fadenziehende Flüssigkeit von gegen Lacmus alkalischer Reaction (ebenso beim Hunde). Im normalen Zustand enthält sie wenig Speichelkörperchen, bei Stagnation im Drüsengange wird sie reicher an diesen und trübe. Sie enthält 0,3 bis 0,6 pCt. Trockenrückstand, darunter Mucin (ebenso bei Thieren ausser Kaninchen), Eiweiss, Ptyalin (beim Hunde nicht oder sehr wenig), Sulfocyansäure (fehlt beim Hunde), anorganische Salze. Submaxillarisspeichel.

Sublingualisspeichel. Das Secret der Sublingualdrüse ist noch zäher, schleimiger als der Submaxillarisspeichel, reagirt ebenfalls gegen Lacmus alkalisch. Mucin, Ptyalin und Sulfocyansäure sind nachgewiesen worden. Wegen seiner geringen Menge und schwierigen Gewinnung ist das Secret bisher wenig untersucht worden. Sublingualisspeichel.

Die Speichelsecretion in den einzelnen Drüsen wird durch cerebrale und sympathische Nerven vermittelt. Experimentell lässt sich bei Thieren die Beschaffenheit und Zusammensetzung der Secrete beeinflussen, je nachdem der eine oder andere Nerv gereizt wird. Diese Verhältnisse sind an der Gland. submax. am Eingehendsten untersucht worden. Reizt man die Chorda tympani (Facialisfasern), so wird eine reichliche Menge eines dünnflüssigen, an Mucin und festen Stoffen armen Speichels (Chordaspeichel) secernirt, während auf Reizung des Sympathicus eine spärliche Secretion eines sehr zähen, schleimigen, stark alkalischen Speichels, welcher reich an Mucin und festen Stoffen ist, erfolgt (Sympathicusspeichel). Nach Durchschneidung sämmtlicher Nerven oder nach Curarevergiftung der Drüse kommt es zur Abscheidung eines sehr wässrigen, noch wenig untersuchten Speichels, des sog. paralytischen Speichels.

Nachweis der Proteïnstoffe im Speichel.

603. Man versetzt den Speichel mit Essigsäure. Ein entstehender Niederschlag, welcher aus Mucin besteht, wird abfiltrirt und nach § 543 auf Mucin geprüft. Enthält der Speichel Eiweiss, so trübt sich das Filtrat beim Kochen, sowie auf Zusatz von Ferrocyankalium.

Nachweis der Fermente im Speichel.

604. Eine Reindarstellung des Ptyalins und der Maltase aus dem Speichel ist noch nicht gelungen. Ueber das Verfahren, das Ptyalin einigermaassen zu isoliren, siehe § 420.

Ihr Nachweis besteht in dem Nachweis der Spaltungsproducte, welche durch ihre Einwirkung auf Amylum oder Glykogen entstehen. Das Ptyalin wandelt diese beiden Stoffe in Dextrine, Maltose und Isomaltose (§ 420), die Maltase wandelt die Maltose in Traubenzucker (§ 422) um.

Ueber die Anstellung eines diastatischen Verdauungsversuchs und die Prüfung auf Dextrine und Zucker siehe § 421. Zum getrennten Nachweis von Maltose, Isomaltose und Traubenzucker dient die Darstellung und Isolirung der Osazone (§ 96, § 97 und § 91).

Quantitative Bestimmung der durch die Speichelfermente gebildeten Zucker.

Um Maltose und Traubenzucker quantitativ zu bestimmen, fällt man die Verdauungsflüssigkeit mit Alkohol, filtrirt, verdunstet das Filtrat, extrahirt den Rückstand mit absol. Alkohol, verdunstet die filtrirte Lösung und löst den Rückstand in Wasser. Nachdem das Volumen der Lösung festgestellt ist, titrirt man mit ihr 5 oder 10 ccm Fehling'scher Lösung nach § 498. Der Rest wird wieder gemessen, nach Zusatz von Salzsäure $^1/_4$ Stunde lang gekocht, nach dem Erkalten mit Sodalösung neutralisirt, auf das ursprüngliche Volumen gebracht und wieder mit der gleichen Menge Fehling'scher Lösung titrirt. Da 100 Gewichtstheile Traubenzucker und 66,8 Gewichstheile Maltose das gleiche Reductionsvermögen haben, so wird das Ende der Titrirung jetzt mit weniger Flüssigkeit erreicht werden als vor dem Kochen mit Salzsäure und aus der Anzahl der weniger verbrauchten Cubikcentimeter lässt sich berechnen, wie viel Glykose und wie viel Maltose die Lösung enthält. Die Isomaltose ist noch zu unbekannt, als dass auf sie hierbei Rücksicht genommen werden könnte.

Nachweis und Bestimmung der Sulfocyansäure im Speichel.

Nachweis.

605. Der Nachweis geschieht nach § 137 mit der Eisenchloridreaction (Rothfärbung auf Zusatz von etwas Salzsäure und verdünnter Eisenchloridlösung) oder in noch empfindlicherer Weise mit der Reaction von Solera (Blaufärbung eines Filtrirpapierstreifens, der mit einer 0,5 pCt. Stärke und etwas Jodsäure enthaltenden Lösung getränkt und nachher getrocknet worden ist). Für die Reaction von Colasanti (smaragdgrüne Färbung mit Kupfersulfat) ist der Speichel mit Alkohol auszufällen, das alkoholische Filtrat zu verdunsten und der Rückstand in Wasser zu lösen.

Quantitative Bestimmung.

Für die quantitative Bestimmung dient das Verfahren von J. Munk[1]). Man wägt eine nicht zu kleine Menge Speichel ab, verdunstet bei mässiger Temperatur, zieht den Rückstand mit Alkohol aus, filtrirt, verdunstet und fällt die wässrige Lösung des Rückstandes nach dem Ansäuern mit Salpetersäure mit Silbernitrat aus. Der abfiltrirte und ausgewaschene Niederschlag wird weiter nach § 487 behandelt.

Einfacher aber weniger genau lässt sich die Bestimmung auf colorimetrischem Wege ausführen. Man bringt in die eine Kammer der Doppelpipette (§ 580) eine gemessene Menge Speichel und fügt aus Büretten kleine gemessene Mengen von Salzsäure und von Eisenchlorid, so lange die Rothfärbung zunimmt, hinzu. In die andere Kammer kommen einige (gemessene) Cubikcentimeter einer Lösung, die in 100 ccm eine bekannte Menge von Schwefelcyankalium (etwa 0,05 g) und Eisenchlorid bis zum Maximum der Färbung enthält. Man fügt jetzt so lange gemessene Mengen Wasser hinzu, bis die Farbe der Flüssigkeiten in beiden Kammern gleich ist. Die Rechnung ist einfach.

---

[1]) Arch. f. path. Anat. **69.** 350. (1877.)

Nachweis der salpetrigen Säure im Speichel.

606. Zum Nachweis der salpetrigen Säure, welche, wie oben erwähnt, nach Wurster im ganz frischen Speichel in der Regel nicht vorhanden ist, prüft man mit Jodkaliumstärkekleister und verdünnter Schwefelsäure (Blaufärbung), mit Metaphenylendiamin und verdünnter Schwefelsäure (Gelbfärbung) oder einem anderen Reagens auf salpetrige Säure.

Nachweis anderer Stoffe im Speichel.

Ueber den Nachweis und event. über die Bestimmung von Ammoniak siehe § 549, von Harnstoff siehe § 109 und § 111, von Harnsäure siehe § 552, Leucin siehe § 557, Milchsäure siehe § 73, anorganischen Salzen siehe § 541.

Speichelsteine, Zahnstein.

607. **Speichelsteine** werden oft in den Ausführungsgängen der Speicheldrüsen bei Menschen und Säugethieren gefunden. Sie sind, wenn nicht mehrere nebeneinander liegen und sich gegenseitig abgeschliffen haben, rundlich, meist hart und schwer, von weisslicher oder gelblicher Farbe und bestehen fast immer im Wesentlichen aus Calciumcarbonat mit Beimengungen von etwas Calciumphosphat und wechselnder Menge organischer Substanz (Proteïnstoffe u. a.).

Qualitative Analyse. Man behandelt einen Theil des zerriebenen Steins mit Salzsäure (Aufbrausen!), filtrirt von der organischen Substanz ab und untersucht die Lösung nach § 432. Qualitative Analyse.

Quantitative Analyse. Man wägt eine Portion des zerriebenen Steins ab, behandelt das Pulver mit kochendem Wasser, filtrirt durch ein gewogenes, aschefreies Filter, wägt nach dem Trocknen, verascht, fügt zur Asche etwas Ammoncarbonat, trocknet, erhitzt zum beginnenden Glühen und wägt nach dem Erkalten. Man erfährt auf diese Weise die Menge der wasserunlöslichen organischen und anorganischen Substanz, sowie die sehr geringe Quantität der wasserlöslichen Stoffe. In dem Glührückstand des wasserunlöslichen Theils kann die Kohlensäure nach § 450, in seiner salzsauren Lösung der Kalk nach § 434 a, in dem Filtrat vom Kalkniederschlag die Phosphorsäure nach Zufügen von Ammoniak durch Fällung mit Magnesiamischung nach § 447 (Ende) bestimmt werden. Quantitative Analyse.

Zahnstein findet sich oft an Zähnen bei Menschen und alten Hausthieren abgesetzt und besteht aus denselben Stoffen wie die Speichelsteine, enthält aber mehr Calciumphosphat und schliesst viele Spaltpilze ein. Die Untersuchung ist dieselbe wie die der Speichelsteine.

Untersuchung des Nasensecrets.

608. **Bestandtheile.** Nach den Ergebnissen der bisherigen, allerdings spärlichen, Untersuchungen enthält das Nasensecret neben Schleimkörperchen

und Epithelzellenresten verhältnissmässig viel Mucin, 1—3 pCt. Extractivstoffe (darunter etwas Sulfocyansäure), sehr wenig in Aether lösliche Stoffe und 0,5—0,6 pCt. anorganische Salze. Je mehr seröse Flüssigkeit sich beimengt, um so reicher an Eiweiss und anorganischen Salzen (bis gegen 1 pCt.) wird es, während der Gehalt an Mucin abnimmt. Bei eitriger Beschaffenheit des Secrets nimmt der Gehalt an ätherlöslichen Stoffen zu. — Die Reaction ist gegen Lacmus alkalisch.

Nachweis und Bestimmung der einzelnen Bestandtheile des Nasensecrets.

Die Sulfocyansäure wird nach § 605 nachgewiesen und bestimmt. Im Uebrigen geschieht die Untersuchung wie die einer serösen Flüssigkeit. Ueber die Abscheidung des Mucins vergl. auch § 613.

Nasensteine.

609. In der Nase abgelagerte Concremente, Nasensteine, enthalten hauptsächlich Calciumphosphat, ausserdem Calciumcarbonat und organische Substanz. Ihre Analyse geschieht in der § 607 angegebenen Weise.

Untersuchung der Thränen.

610. Das völlig wasserklare Secret enthält kleine Mengen von Proteïnstoffen, Fett und anorganischen Salzen (darunter hauptsächlich Kochsalz) und reagirt gegen Lacmus alkalisch. Im Conjunctivalsecret ist Sulfocyansäure (§ 137 und § 605) nachgewiesen.

Es gerinnt beim Kochen und bildet in Wasser getropft einen Niederschlag, der wahrscheinlich aus Globulin besteht (Hoppe-Seyler[1]). Die weitere Untersuchung geschieht wie die einer serösen Flüssigkeit (§ 536ff.).

Untersuchung der Sputa[2]).

Bei den verschiedenen krankhaften Zuständen der Schleimhaut der Luftwege und der Lunge werden ihrer äusseren Beschaffenheit und ihrer Zusammensetzung nach verschiedene Sputa ausgeworfen.

611. **Bestandtheile.** Die rein schleimigen, glasig durchscheinenden oder auch rauchgrauen Sputa der chronischen Bronchitis und des Asthma bronchiale sind reich an Mucin, enthalten nur Spuren von Eiweiss, aber Nucleoproteïde, vielleicht auch Paranucleoproteïde; ferner in Aether lösliche Stoffe (Lecithin, Cholesterin, Fette), Protagon*), anorganische Salze.

---

*) Die sogen. Myelinformen, wie sie im bronchitischen Sputum und im Morgensputum Gesunder bei der mikroskopischen Untersuchung sich zeigen, sind in Alkohol löslich, in Aether unlöslich und bestehen aus Protagon (§ 185). A. Schmidt u. Fr. Müller, Berl. klin. Wochenschr. 1898. S. 73 u. S. 75.

1) Physiolog. Chemie. S. 701.

2) H. Kossel, Zeitschr. f. klin. Med. **13.** 149. (1887.)
Fr. Müller, Zeitschr. f. Biol. **42.** 468. (1901.)

Die gelben oder rothen (rostfarbenen) Sputa der croupösen Pneumonie von zäh gallertig schleimiger Beschaffenheit sind reich an Eiweiss und Nucleoproteïden, enthalten Mucin und vielleicht auch Paranucleoproteïde, ferner ätherlösliche Stoffe und anorganische Salze.

Die serös-schleimigen und schleimig-eitrigen Sputa des gewöhnlichen Katarrhs und der Lungentuberculose enthalten Mucin, Eiweiss, phosphorhaltige Proteïde, Peptone (aus dem Eiter stammend), ätherlösliche Substanzen u. z. diese entsprechend ihrem Gehalt an Eiter in reichlicherer Menge, anorganische Salze.

Die dünnflüssigen, rein serösen Sputa bei Lungenödem enthalten viel Eiweiss.

Die Sputa aus Bronchiectasien, tuberculösen Cavernen u. s. w. enthalten ausser den genannten Stoffen die bakteriellen Zersetzungsproducte von Proteïnstoffen, von Lecithin und von Fett: Ammoniak, Schwefelwasserstoff, niedere und höhere Fettsäuren u. s. w. Man findet in ihnen die dünnen breiten, biegsamen Nadeln von Palmitin- und Stearinsäure, Cholesterinkrystalle, Charcot'sche Krystalle (§ 168).

612. **Allgemeine Eigenschaften.** Die Reaction des frisch ausgeworfenen Sputums ist in der Regel gegen Lacmus alkalisch.

Das specifische Gewicht schwankt zwischen 1004 und 1037. Die rein schleimigen Sputa zeigen das niedrigste spec. Gewicht, die serösen das höchste. Zur Bestimmung verflüssigt man das Sputum in einem Kölbchen mit Steigrohr durch langsames Erwärmen auf dem Wasserbade und giesst es nach dem Abkühlen in ein Pycnometer (H. Kossel).

Nachweis und Bestimmung der einzelnen Bestandtheile der Sputa.

613. Die Untersuchung geschieht nach den für die serösen Flüssigkeiten (§§ 536 ff.) gemachten Angaben. Um Mucin und andere durch Essigsäure fällbare Substanzen abzuscheiden, ist es zweckmässig, die dickschleimigen Massen in einem Kölbchen mit verdünnter Essigsäure stark zu schütteln.

Auf niedrige und höhere Fettsäuren prüft man Sputa aus Bronchiectasien u. s. w. nach § 71 und § 72.

614. Farbstoffe. Der färbende Bestandtheil der rostfarbigen Sputa Farbstoffe.
ist zum Theil unveränderter Blutfarbstoff, zum Theil ein unbekanntes, gelbliches Derivat desselben. Die gelben und grünen Färbungen, welche die eitrigen Sputa zeigen und die von beigemengtem gefärbtem Eiter herrühren, sind noch nicht untersucht. Dasselbe gilt von dem Farbstoff, der die grauweissen Sputa bei gleichzeitig bestehendem Icterus oder auch ohne solchen gelegentlich grün färbt. Unter Umständen ist die grüne Farbe durch farbstoffbildende Bakterien hervorgerufen. Um zu entscheiden, ob die graue oder schwärzliche Farbe eines Sputums von eingeathmeten Kohlepartikelchen (Lampenruss oder dergl.) oder von einem im Körper entstandenen

Farbstoff herrührt, löst man das Sputum in verdünnter Natronlauge und leitet einige Minuten Chlorgas hindurch. Kohle bleibt völlig unverändert, alle organischen Farbstoffe werden entfärbt. Die perlgraue Farbe der Sputa bei chronischer Bronchitis (siehe oben) ist durch pigmentirte Zellen bedingt, deren Farbstoff bei dieser Behandlung schnell gebleicht wird. Etwa vorhandenes Eisenoxyd würde erst beim Uebersättigen und Erwärmen mit Salzsäure entfärbt und gelöst werden.

Cholesterinkrystalle kommen in den Sputis zuweilen bei Durchbruch von Empyemen in die Lunge vor, ebenso sind Hämatoïdinkrystalle (§ 260) in solchen Fällen in den Sputis beobachtet worden.

Loebisch und v. Rokitansky[1]) erhielten aus einem bronchiectatischen Sputum nach der Methode von Baumann und v. Udránszky (§ 169) Pentamethylendiamin (?) als Benzoylverbindung.

Untersuchung des Magensafts und des Mageninhalts.

Allgemeines über den Magensaft.

615. Der Magensaft, das Secret der Drüsen der Magenschleimhaut, zeichnet sich durch seine intensiv saure Reaction vor den übrigen Secreten aus. Er stellt eine wasserklare, nicht schleimige, gut filtrirbare Flüssigkeit dar, in der Pepsin, Labferment und Steapsin, anorganische Salze und freie Salzsäure nachgewiesen sind. Die Menge der Salzsäure im menschlichen Magensaft wird zu 0,2—0,3 pCt. angegeben, ist aber wahrscheinlich höher. Der Nachweis freier Salzsäure im Magensaft wurde von Bidder und Schmidt[2]) geführt, indem sie einerseits den Chlorgehalt (Fällen mit Silbernitrat nach Ansäuern mit Salpetersäure und Wägen des Chlorsilbers), andrerseits sämmtliche Basen bestimmten und fanden, dass weniger Basen vorhanden waren, als das Chlor zu binden vermochte. Unter pathologischen Verhältnissen kann der Magensaft Eiweiss, Ammoniak, Harnstoff enthalten oder es können ihm Blut oder Galle beigemengt sein.

Hundemagensaft. Hundemagensaft. Während es nur in seltenen Fällen oder gar nicht möglich ist, menschlichen Magensaft frei von Nahrungsmitteln und Speichel zu erhalten, lässt sich von ösophago- und gastrotomirten Hunden während der sogen. Scheinfütterung (Pawlow) reiner Magensaft leicht in grossen Mengen gewinnen. Von etwas Schleim durch Filtration befreit stellt er eine völlig klare oder ein wenig opalescirende, linksdrehende Flüssigkeit dar, welche die Xanthoproteïnreaction giebt, aber nicht die Biuretreaction (§ 280, B). Sie enthält 0,3—0,6 pCt. Trockenrückstand, 0,1—0,16 pCt. Asche (Kalium, Natrium, Calcium, Magnesium, Eisen, Salzsäure, Phosphorsäure, Schwefelsäure) und 0,5—0,6 pCt. freie Salzsäure. Sulfocyansäure

[1]) Centralbl. f. klin. Med. II. 1.

[2]) Die Verdauungssäfte und der Stoffwechsel. S. 44. 1852.

ist vorhanden und. zuweilen direct, zuweilen erst nach sehr starker Concentration nachweisbar (§ 137 und § 605). Beim Abkühlen auf 0° und ebenso beim Centrifugiren des eine Zeit lang gegen destillirtes Wasser dialysirten Saftes scheidet sich ein Niederschlag ab, welcher Pepsin und Lecithin enthält. Durch Alkohol lässt sich das Lecithin entziehen. Ueber die Darstellung des Pepsins siehe § 409.

Der menschliche Magensaft bildet eigentlich nur als Bestandtheil des **Mageninhalts** ein Object für die Untersuchung. Die Methoden, welche diesen Untersuchungen dienen, werden im Folgenden besprochen.

Nachweis der Säuren im Mageninhalt.

616. **Vorbemerkungen.** Die Flüssigkeit, welche sich durch eine elastische Sonde, die einige Zeit nach einer Mahlzeit in den Magen eingeführt wird, gewinnen lässt, stellt ein Gemisch von Magensaft und mehr oder weniger veränderten Nährstoffen dar. Dieses Gemisch reagirt gegen Lacmus sauer. An der sauren Reaction können ausser der nie fehlenden Salzsäure saure Phosphate, Milchsäure und flüchtige Fettsäuren betheiligt sein. Die Summe aller bedingt die „Gesammtacidität". Gesammtacidität.

Salzsäure ist als freie oder als gebundene Salzsäure vorhanden. Enthält das Gemisch Eiweissstoffe oder Verdauungsproducte derselben (Propeptone, Peptone), so binden diese Salzsäure des Magensaftes („gebundene Salzsäure") und nur, wenn mehr Salzsäure secernirt worden ist, als dem Bindungsvermögen jener Stoffe entspricht, findet sich auch „freie Salzsäure". Die gebundene und die freie Salzsäure machen die „Gesammtsalzsäure" aus. Unter letzterer versteht man also sämmtliche nicht an Metalle gebundene Salzsäure. gebundene Salzsäure. freie Salzsäure. Gesammtsalzsäure.

In der ersten Zeit nach Aufnahme eiweisshaltiger Speisen findet sich keine freie Salzsäure im Mageninhalt, indem sämmtliche secernirte Salzsäure an Eiweiss und seine Verdauungsproducte gebunden ist. Die Secretion des Magensaftes schreitet aber fort und unter gesunden Verhältnissen ist 100 Minuten nach einem „Probefrühstück" (300 ccm Thee und 40 g Weissbrod) oder 3—4 Stunden nach einer „Probemahlzeit" (ein grosser Teller Suppe, ungefähr 200 g Fleisch und 50 g Brot) freie Salzsäure vorhanden. Bei Carcinom, auch bei Magenkatarrhen, bei fieberhaften Zuständen ist aber der Nachweis freier Salsäure auch zu dieser Zeit nicht und ebensowenig später zu führen, weil die Menge der Verdauungsproducte mehr wie hinreichend ist, um die in geringerer Quantität secernirte Salzsäure zu binden [1]). Ein Sistiren der Salzsäureabsonderung findet auch unter den genannten pathologischen Verhältnissen nicht statt [2]).

Milchsäure und flüchtige Fettsäuren treten, wenn sie nicht präformirt mit der Nahrung eingeführt worden sind, nur unter pathologischen Verhältnissen in Folge bakterieller Zersetzungen der Nährstoffe auf. Der

---

[1]) Honigmann und v. Noorden, Zeitschr. f. klin. Med. **13**. 87. (1887.)
[2]) Cahn und v. Mering, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **39**. 233. (1886.)

Mageninhalt von Leichen enthält oft reichliche Mengen dieser Säuren, besonders bei kleinen Kindern.

Für die einzelnen Nachweise benutzt man Proben des filtrirten Mageninhaltes.

617. **Freie Salzsäure.** Zum Nachweise, welcher darauf beruht, dass eine Reihe von Farbstoffen gegenüber verdünnten organischen und an Eiweissstoffe gebundenen Mineralsäuren ein anderes Verhalten zeigt als gegen freie Mineralsäuren, dienen die unter 1—4 aufgeführten Reactionen.

Reoch[1]) wies zuerst darauf hin, dass in einer Mischung von Ferricitrat oder -tartrat und Schwefelcyanammonium die blutrothe Färbung durch Bildung von Eisenrhodanid nur bei Gegenwart von Mineralsäuren, nicht bei Gegenwart von organischen Säuren auftritt. Szabó[2]) wandte diese Reaction zur Prüfung des Magensaftes auf Salzsäure an. Von den Velden[3]) empfahl zu dem gleichen Zweck einige Anilinfarbstoffe. Seitdem hat man noch andere, für diese Reaction geeignete Substanzen angegeben und festgestellt, dass die „gebundene Salzsäure" sich diesen Farbstoffen gegenüber wie organische Säure verhält, die Reagentien also zum Nachweis „freier Salzsäure" dienen können.

1. Congopapier nimmt eine intensiv blaue (blauschwarze) Färbung an. (Weniger intensive Blaufärbung kann auch durch Milchsäure hervorgerufen werden.)

2. Methylviolett. Auf Zusatz einiger Cubikcentimeter der Untersuchungsflüssigkeit zu einer stark verdünnten, wässrigen, hellvioletten Lösung tritt Blaufärbung ein.

3. Tropäolin 00. Man erhält violette bis lilarothe Spiegel, wenn man 4—5 Tropfen einer gesättigten alkoholischen Lösung von Tropäolin 00 auf einer Porzellanschale vertheilt, ebenso viel Tropfen der zu untersuchenden Flüssigkeit hinzufügt, nach einigen Augenblicken die Mischung durch Schütteln sich auf der Schale ausbreiten lässt und nun vorsichtig durch Hin- und Herbewegen über kleiner Flamme erwärmt (Boas).

4. Phloroglucin-Vanillin. Man benutzt eine Lösung, welche in 30 Th. Alkohol 2 Th. Phloroglucin und 1 Th. Vanillin enthält, und verfährt ebenso wie bei 3: Rothfärbung.

Diese letztere Reaction ist die empfindlichste, sie zeigt noch 0,1 pM. freie Salzsäure an. Sie fällt im Gegensatz zu den übrigen auch bei concentrirter Milchsäure negativ aus.

618. **Milchsäure.** Man schüttelt 5 ccm der Flüssigkeit in einem kleinen Scheidetrichter mit der mehrfachen Menge (etwa 30 ccm) reinem, alkoholfreiem Aether ordentlich durch, verdunstet den abgegossenen Aether, nimmt den Rückstand in wenig Wasser auf und versetzt die wässrige Lösung mit dem blauvioletten Uffelmann'schen Reagens[4]) (30 ccm

---

[1]) Journ. of anat. and physiol. 1874. p. 274.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **1**. 152. (1878.)

[3]) Deutsch. Arch. f. klin. Med. **23**. 31. (1879.) **27**. 389. (1880.)

[4]) Ebendas. **26**. 441. (1880.)

einer 1proc. Carbollösung + einige Tropfen Eisenchloridlösung): zeisiggelbe Färbung.

Da Alkohol, Zucker, Phosphate diese Reaction auch geben, ist die Isolirung der Milchsäure in der angegebenen Weise erforderlich.

619. **Flüchtige Fettsäuren.** Dieselben geben sich meist schon durch den Geruch zu erkennen. Ist das nicht der Fall, so erhitzt man die Flüssigkeit zum Kochen und prüft die Dämpfe mittelst eines feuchten blauen Lacmuspapiers auf saure Reaction oder man destillirt und prüft das Destillat.

620. **Saure Phosphate.** Man fügt nach Leo[1]) in einem Uhrglase zu einigen Cubikcentimetern der Flüssigkeit etwas gepulvertes reines Calciumcarbonat, verrührt mit einem Glasstabe und prüft mit Lacmuspapier. Saure Reaction zeigt die Anwesenheit saurer Phosphate an.

Bestimmung der Säuren im Mageninhalt.

621. **Gesammtacidität.** Man titrirt 10 ccm mit $^n/_{10}$ Natronlauge unter Benutzung von Phenolphtaleïn als Indicator.

Unter normalen Verhältnissen braucht man für 10 ccm Mageninhalt, der 60 Minut. nach Einnahme eines Probefrühstücks (§ 616) entnommen ist, 3—6 ccm $^n/_{10}$ Natronlauge.

622. **Gesammtsäure** nach Leo[2]). Gesammtsäure nach Leo.

Princip. Die Methode beruht darauf, dass alle Säuren (incl. der gebundenen Salzsäure) durch Calciumcarbonat neutralisirt werden, während die Acidität etwa vorhandener saurer Phosphate und anderer alkalibindender Substanzen durch dieses Salz nicht verändert wird und besteht darin, dass man einen Theil der Flüssigkeit direct, einen anderen nach Behandlung mit Calciumcarbonat titrirt.

Ausführung. Man versetzt 10 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit mit 5 ccm conc. Chlorcalciumlösung*) und titrirt unter Benutzung von Phenolphtaleïn mit $^n/_{10}$ Natronlauge. Weitere 15 ccm verreibt man mit 1 g trockenem pulverisirtem Calciumcarbonat und filtrirt durch ein aschefreies Filter. Von dem Filtrat werden 10 ccm durch Einleiten von Luft von Kohlensäure befreit und nach Zusatz von 5 ccm conc. Chlorcalciumlösung*) und Phenolphtaleïn titrirt.

Berechnung. Die Differenz beider Resultate giebt die der Gesammtsäure entsprechende Acidität an.

Enthält die Flüssigkeit keine Milchsäure und flüchtige Fettsäuren oder sind diese durch Ausschütteln mit Aether vorher entfernt, so ist das Resultat auf Gesammtsalzsäure zu beziehen.

---

*) Dieser Zusatz ist mit Rücksicht auf etwaige Anwesenheit saurer Phosphate nöthig; siehe bei Leo.

[1]) Centralbl. f. d. med. Wiss. 1889. S. 481.

[2]) Diagnostik der Krankh. d. Verdauungsorg. 1890. S. 115.

Gesammtsalzsäure nach Sjöqvist.

623. **Gesammtsalzsäure.** a) Nach Sjöqvist[1]).

Princip. Die Methode beruht darauf, dass beim Eintrocknen einer Flüssigkeit, welche organische Säuren und Salzsäure enthält, mit Bariumcarbonat und Verkohlen des Rückstandes die organischen Säuren unlösliches Bariumcarbonat, die Salzsäure lösliches Bariumchlorid liefern. Um die Menge des gelösten Bariums zu erfahren, wird das Bariumchlorid in Bariumchromat umgewandelt, dieses mit Salzsäure und Jodkalium zusammengebracht und das nach der Gleichung $2\ BaCrO_4 + 16\ HCl + 6\ KJ = 2\ BaCl_2 + Cr_2Cl_6 + 8\ H_2O + 6\ KCl + 3\ J_2$ frei gemachte Jod durch Hyposulfitlösung titrirt.

Erforderliche Lösungen: 1. Ammonacetatlösung, hergestellt durch Neutralisation von 25proc. Essigsäure mit 10proc. Ammoniak.

2. 25proc. Essigsäure. 3. 25proc. Salzsäure.

4. Etwa 6proc. Lösung von neutralem, schwefelsäurefreiem Ammonchromat.

5. Jodkaliumlösung (50 g in 100 ccm Wasser) in dunkler Flasche aufzubewahren.

6. Jodzinkstärke. 7. Natriumhyposulfitlösung, von der 1 ccm etwa 3 mg HCl entspricht (siehe folgenden Absatz).

Titerstellung der Natriumhyposulfitlösung. Es werden zwei Lösungen bereitet, von denen die eine im Liter 31 g umkrystallisirtes Natriumhyposulfit, die andere im Liter etwa 10 g (genau abgewogen) umkrystallisirtes und bis zum Schmelzen erhitztes, dann im Exsiccator abgekühltes Kaliumbichromat enthält. Von letzterer Lösung misst man genau 10 ccm ab, fügt 40 ccm Wasser, 2 ccm Jodkaliumlösung und 5 ccm Salzsäure hinzu und titrirt vorsichtig und unter lebhaftem Umrühren mit der Hyposulfitlösung, bis die rothe Jodfarbe abblasst. Jetzt fügt man 2 ccm Jodzinkstärke hinzu und darauf wieder Hyposulfitlösung, bis die intensiv blaue Farbe in die blassgrüne des Chromchlorids umschlägt. Waren z. B. 10,10 g Kaliumbichromat abgewogen und 16 ccm Hyposulfitlösung verbraucht, so entspricht, da 1 Mol. $K_2Cr_2O_7$ (294,5) 4 Mol. HCl (145,8) erfordern, 1 ccm Hyposulfitlösung $\frac{0{,}101 \cdot 145{,}8}{294{,}5 \cdot 16} = 3{,}124$ mg HCl. Der Titer muss bisweilen controllirt werden.

Ausführung. 10 ccm der Flüssigkeit werden in einer Platinschale mit etwa 0,5 g chlorfreiem Bariumcarbonat versetzt, fein zerrieben, auf dem Wasserbade zur Trockne eingedampft, bei aufgelegtem Deckel und gelinder Temperatur (kaum Rothglühhitze) bis zum Grauwerden der Asche verbrannt und nach dem Erkalten wiederholt mit kleinen Mengen heissen Wassers extrahirt bis zum Ausbleiben der Chlorreaction. Die Filtrate (etwa 50 ccm) werden mit 4 ccm Ammonchromatlösung gefällt. Nach 2 Stunden befreit man den Niederschlag durch Decantation, Filtration und Waschen mit Wasser von Ammonchromat, bringt ihn dann mit dem Filter in dasBecherglas, in dem

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **13.** 1. (1889.) und Skand. Arch. f. Physiol. **5.** 305. (1895.) oder Zeitschr. f. klin. Med. **32.** 451. (1897.)

die Fällung vorgenommen wurde, zurück, fügt 10 ccm Wasser und einige Tropfen Salzsäure hinzu und bewirkt durch Zerreiben des Filters mit dem Glasstab völlige Lösung des Niederschlags. Nun fügt man 30 ccm Wasser, 2 ccm Jodkaliumlösung und 5 ccm Salzsäure hinzu und titrirt wie oben bei der Titerstellung beschrieben.

Statt dessen kann man auch in der vom Bariumcarbonat abfiltrirten Flüssigkeit das Barium mit Schwefelsäure ausfällen und das Bariumsulfat nach § 444 weiter behandeln. Die Menge des gefundenen Bariumsulfats multiplicirt mit 0,3123 giebt die Menge der Salzsäure.

624. b) Nach Lüttke[1]. Gesammtsalzsäure nach Lüttke.

Princip. Man bestimmt in einer Probe die gesammte Chlormenge, in einer anderen die Chlormenge, welche nach dem Verbrennen der organischen Substanz zurückbleibt. Die Differenz beider Werthe auf Salzsäure umgerechnet giebt die Gesammtsalzsäure.

Erforderliche Lösungen: Die bei der Volhard'schen Chlortitrirung (§ 469, 2) aufgeführten.

Ausführung. In 10 ccm der Flüssigkeit wird eine Chlorbestimmung nach Volhard (§ 469, 2) ausgeführt. In den seltenen Fällen, in denen die Flüssigkeit stark gefärbt ist, fügt man nach dem Silberzusatz 5—10 Tropfen Permanganatlösung hinzu.

Weitere 10 ccm werden in einer Platinschale zur Trockne verdampft. Den Rückstand verbrennt man über freier Flamme, aber vorsichtig und nur so lange, bis die Kohle nicht mehr mit leuchtender Flamme brennt. Die Kohle wird angefeuchtet, zerrieben und mit 100 ccm warmem Wasser extrahirt. In dem Filtrat bestimmt man wieder den Chlorgehalt nach Volhard.

Berechnung. Die Differenz der in beiden Bestimmungen erhaltenen Chlormengen multiplicirt mit 1,0285 ergiebt die Menge der Gesammtsalzsäure.

Diese Methode giebt etwas höhere Werthe als die vorige.

Nachweis der Fermente im Mageninhalte.

625. **Pepsin.** Um zu untersuchen, ob eine Flüssigkeit, die aus dem Magen stammt, Eiweiss zu verdauen vermag, prüft man am besten ihr Verhalten zu ausgewaschenem Fibrin. Man übergiesst eine kleine Fibrinflocke in einem Reagensglase mit einer kleinen Menge der filtrirten Flüssigkeit und bringt das Glas in den Brutschrank (37—40°). Unter normalen Verhältnissen ist die Fibrinflocke spätestens in einer halben Stunde so gut wie völlig gelöst. Da das Fibrin in Säure nicht ganz unlöslich ist, so muss stets ein Controllversuch mit Säure allein (8 Th. conc. Salzsäure auf 1000 Th.

[1] Deutsche med. Wochenschr. 1891. S. 1325.
Martius u. Lüttke, Die Magensäure des Menschen. Stuttgart. Enke. 1892. S. 101.

Wasser) angestellt werden. Ist die Lösung ungenügend und tritt sie auch in den nächsten Stunden nicht ein, so darf man daraus noch nicht auf Abwesenheit oder Verminderung des Pepsins schliessen. Der Grund kann vielmehr allein in mangelnder freier Salzsäure liegen. Um das zu entscheiden, setzt man der zu prüfenden Flüssigkeit vor Anstellung des Verdauungsversuchs auf 20 ccm etwa 1 ccm einer 2,5 proc. Salzsäure hinzu.

Statt des Fibrins kann man auch in feinste Scheibchen geschnittenes gekochtes Hühnereiweiss benutzen. Dasselbe wird schwerer als Fibrin gelöst. Unter normalen Verhältnissen ist nach halbstündigem Aufenthalt im Brutschrank eine Abrundung der Kanten und eine deutliche Verkleinerung des Scheibchens nachweisbar.

Ein Fehlen des Pepsins ist selten, es wird beobachtet bei Atrophie der Magenschleimhaut, auch bei Carcinom.

Quantitative Schätzung der verdauenden Kraft.

Die beschriebene Methode lässt natürlich auch eine quantitative Schätzung der verdauenden Kraft zu, indem diese ihren Ausdruck in der Geschwindigkeit der Lösung des Fibrins findet.

Grützner[1]) empfiehlt für diese Versuche die Benutzung von Fibrin, das mit einer conc. neutralen Carminlösung getränkt und dann völlig mit Wasser ausgewaschen ist. Bei seiner Verdauung nimmt die Flüssigkeit eine mit der Lösung zunehmende Rothfärbung an.

Grünhagen[2]) hat für diese Zwecke folgende vergleichende Methode angegeben: Man lässt ausgewaschenes Fibrin in 0,2 proc. Salzsäure zur steifen Gallerte quellen, presst gut ab und bringt gleiche Mengen auf Filter, die sich auf Trichtern über kleinen Maasscylindern befinden. Man giesst die zu prüfenden Lösungen darauf und und stellt die Cylinder in den Brutschrank. Die in der Zeiteinheit ablaufende Tropfenzahl kann als Maass für die Intensität der Pepsinwirkung dienen.

Ueber genauere Methoden zur Bestimmung der relativen eiweissverdauenden Kraft siehe § 410.

Das Verfahren zur Isolirung der peptischen Verdauungsproducte ist § 412 angegeben.

626. **Labferment.** Man versetzt 10 ccm frischer Milch mit 1—2 ccm des filtrirten und genau neutralisirten Mageninhaltes. Bei Gegenwart von Lab soll die Milch bei Körpertemperatur in 10—20 Min. ohne Aenderung der Reaction gerinnen (§ 419).

Das Labferment scheint unter pathologischen Verhältnissen häufiger als das Pepsin zu fehlen, z. B. bei Carcinom.

627. **Steapsin.** Man bringt filtrirten und neutralisirten Mageninhalt mit einer natürlichen Emulsion (Eigelb, Rahm, Milch) zusammen und untersucht nach 5—15 Min. in der § 424 angegebenen Weise auf abgespaltene Fettsäuren.

---

1) Arch. f. d. ges. Physiol. **8.** 452. (1874.) 2) Ebendas. **5.** 203. (1872.)

Nachweis fremder Beimengungen im Mageninhalte.

628. **Galle** findet sich häufig im Erbrochenen nach Eingabe von Vomitiven, bei Puerperalfieber, bei der Urämie u. s. w. Der Nachweis der Gallensäuren geschieht nach § 236, 3, der Nachweis der Gallenfarbstoffe nach § 260, 1.

629. **Blut** ist gleichfalls oft in erbrochenen Massen vorhanden, aber in unzersetztem Zustande nur bei ganz aufgehobener Verdauung oder sehr reichlichen Magenblutungen. Meist ist es durch die Einwirkung der freien Säure des Magensaftes in eine kaffeesatzartige Masse verwandelt, welche Hämatin enthält. Zum Nachweis löst man die Masse in etwas Soda oder Natronlauge, filtrirt, fügt Schwefelammonium hinzu und prüft mit dem Spectroskop auf Hämochromogen (§ 253). Enthalten die erbrochenen Massen andere aus den Speisen stammende Farbstoffe oder Galle in reichlicherer Menge, so entfernt man diese störenden Substanzen zunächst, indem man die Flüssigkeit mit etwas verdünnter Salpetersäure erwärmt und filtrirt. Der Niederschlag wird in sehr verdünnter Natronlauge gelöst, die Lösung mit Schwefelammonium versetzt und geprüft.

630. **Eiweiss** kommt sehr häufig in ausgebrochenen Massen bei Magenkatarrh, Cholera u. s. w. vor, ohne dass es mit der Nahrung eingeführt war. Es kann durch die Kochprobe (§ 280, 2), durch Salpetersäure (§ 280, 3) oder eine der anderen Reactionen nachgewiesen werden.

Nachweis und Bestimmung von Harnstoff, Ammoniak, Zucker im Mageninhalt oder im Erbrochenen geschehen nach S. 119, § 549 bezw. § 553.

Untersuchung des Pancreassafts.

631. Der normale Pancreassaft des Hundes (aus einer Fistel gewonnen) stellt eine klare, dickliche, alkalische Flüssigkeit mit wechselndem Trockenrückstand dar.

Bestandtheile. Die festen Bestandtheile sind zum grössten Theil Proteïnstoffe. Der Eiweissgehalt kann so reichlich sein, dass beim Kochen nach Ansäuern mit Essigsäure völlige Gerinnung erfolgt. Ausserdem sind Fette, Seifen und ein wenig Leucin nachgewiesen worden, ferner mehrere Enzyme: Trypsin, Labferment, diastatisches Ferment, Maltase, Steapsin und ungefähr 0,9 pCt. anorganische Salze (hauptsächlich Kochsalz, ferner Kohlensäure und Phosphorsäure gebunden an Alkalien, Calcium, Magnesium und Eisen).

Die Analyse eines menschlichen Pancreassaftes (aus einer Fistel) ergab 13—14 pCt. Trockensubstanz, darunter 9—10 pCt. Proteïnstoffe, 0,8 bis 0,9 pCt. in Alkohol lösliche Stoffe und 0,3—0,4 pCt. anorganische Salze[1]).

Nachweis der Fermente im Pancreassaft.

632. Trypsin. Man bringt in einem Reagensglase zu dem Saft eine Fibrinflocke und etwas Toluol und beobachtet, ob bei Bruttemperatur als-

[1]) Zawadsky, Refer. Centralbl. f. Physiol. 5. 179. (1892.)

bald Lösung erfolgt. Ueber das Trypsin und die Isolirung der Verdauungsproducte aus einer tryptischen Verdauungsflüssigkeit siehe § 413 bis § 415.

Labferment. Vergl. § 418 und § 419.

Diastatisches Ferment und Maltase. Vergl. § 420 bis § 422.

Steapsin. Vergl. § 423 und § 424.

Nachweis und Bestimmung der übrigen Stoffe im Pancreassaft.

633. Man verfährt nach den Vorschriften des Abschnittes, welcher von der „Untersuchung der serösen Flüssigkeiten“ handelt (§ 536 ff.).

Pancreassteine.

634. Concremente finden sich in seltenen Fällen im Ductus Wirsungianus. Sie bestehen in der Regel aus Calciumcarbonat, Calciumphosphat und organischer stickstoffhaltiger Materie, aber in sehr wechselnden Verhältnissen. Die Untersuchung geschieht in derselben Weise wie die der Speichelsteine (§ 607). Es kommen aber auch Steine vor, welche viel Cholesterin, Fett, Fettsäuren und Seifen enthalten.

Untersuchung des Darmsafts.

635. Der Darmsaft, im Wesentlichen das Secret der Lieberkühnschen Drüsen, ist gelegentlich von Menschen mit Darmfisteln erhalten worden. Man gewinnt ihn in einfacher Weise von Thieren, denen eine Thiry-Vella'sche Fistel angelegt ist. Er stellt eine dünn- oder mehr dickflüssige, gegen Lacmus alkalisch reagirende Flüssigkeit dar und ist mit mehr oder weniger gallertigen Klumpen oder Flocken durchsetzt.

Bestandtheile. Es sind in ihm nachgewiesen Eiweiss, Mucin, Erepsin[1 u. 2]) (§ 416), Spuren von Trypsin[2]), diastatisches Ferment (?), Invertin, Maltase, Lactase, anorganische Salze, darunter Kochsalz und so viel Natriumcarbonat, dass der Saft beim Uebergiessen mit Salzsäure aufbraust.

Die Untersuchung geschieht wie die des Pancreassaftes (§ 632 und § 633).

Um auf Erepsin zu prüfen, versetzt man den Darmsaft mit einer Lösung von Deuteroalbumose und etwas Chloroform und prüft nach 24stündigem oder mehrtägigem Aufenthalt im Brutschrank auf Leucin und Tyrosin in der S. 385 (unten) angegebenen Weise.

Untersuchung der Galle.

636. Die Galle stellt im normalen Zustande bei Menschen und Thieren eine schleimige, völlig klare, braune, gelbbraune, grüne oder bläulich-grüne, bitter schmeckende und eigenthümlich aromatisch riechende

---

[1]) Salaskin, Zeitschr. f. physiol. Chem. **35**. 419. (1902.)

[2]) Kutscher u. Seemann, Ebendas. **35**. 442. (1902.)

Flüssigkeit von neutraler oder (gegen Lacmus) schwach alkalischer Reaction dar. Man unterscheidet die Lebergalle, das unmittelbare Secret der Leber und die Blasengalle, welche in der Gallenblase durch Resorption und Beimengung von Schleim eine Concentration erfahren hat. Die frische menschliche Lebergalle scheint stets rothgelb oder gelbbraun gefärbt zu sein.

637. **Bestandtheile.** Die Lebergalle enthält ungefähr 2—3 pCt. feste Stoffe, darunter 0,7—0,8 pCt. anorganische Salze, die Blasengalle ungefähr 10—17 pCt. feste Stoffe, darunter ebenfalls gegen 1 pCt. anorganische Salze. Die Galle ist frei von Eiweiss (keine Gerinnung beim Kochen), enthält neben wenig Gallenschleim (in der menschlichen Galle Mucin, in der Rindergalle zum grössten Theil Paranucleoproteïd § 389) in der Hauptsache eigenthümliche, fast immer grösstentheils an Natron gebundene Säuren (gepaarte Gallensäuren § 246 ff.), die sich ausser in Galle und Darminhalt im normalen Zustande im ganzen Körper nicht finden. Bei Fleischfressern ist es meist Taurocholsäure, an Natron gebunden, welche die Hauptmasse des festen Rückstandes der Galle darstellt, bei Rindern ist daneben glykocholsaures Natron in wechselnden Mengen vorhanden. Die Galle vom Menschen enthält neben wenig Taurocholsäure viel Glykocholsäure. Bei Schweinen und bei Vögeln finden sich eigenthümliche, noch nicht hinreichend untersuchte Gallensäuren, beim Haifisch gepaarte Schwefelsäuren (Scymnolschwefelsäuren § 251). Auch in der Galle anderer Thiere kommen gepaare Schwefelsäuren, deren Isolirung aber noch nicht gelang, vor, zuweilen auch in der menschlichen Galle (Hammarsten[1]). Lecithin und Cholesterin sind in jeder normalen Galle, die darauf untersucht ist, gefunden worden, ebenso ein geringer Gehalt an Fetten und Seifen, in sehr geringer Menge Harnstoff (reichlich in der Haifischgalle) und Spuren von diastatischem Ferment. In der Eisbärgalle wurde eine schwefel- und phosphorhaltige jecorin- oder protagonartige Substanz aufgefunden (Hammarsten[2]). Dieselbe kommt vermuthlich auch in andern Gallen vor. Was die Gallenfarbstoffe betrifft, so ist beim Menschen, ebenso bei den meisten Fleischfressern, wie es scheint, das Bilirubin der hauptsächlich färbende Bestandtheil, in manchen Gallen, sehr häufig auch in der menschlichen, findet sich auch Urobilin oder ein urobilinähnlicher Farbstoff. Im Hungerzustand zeigt sich stets grüne Färbung der Galle durch Biliverdin. Von anorganischen Stoffen enthält die Galle stets Salzsäure, Phosphorsäure, auch wohl Schwefelsäure, gebunden an Natrium, Kalium, Calcium, Magnesium, Eisen, oft auch Spuren von Kupfer, in grösster Menge finden sich Salzsäure und Natrium.

Pathologische Bestandtheile. Eiweiss, veränderter Blutfarbstoff,

---

[1]) Zur Kenntniss der Lebergalle des Menschen. Mitgetheilt d. Kgl. Ges. d. Wiss. zu Upsala am 15. Juni 1893.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **32**. 435. (1901.)

Zucker kommen öfters vor, auch Leucin und Tyrosin sind nachgewiesen worden. Durch Entzündung der Gallenblase und behinderten Abfluss kann eine Ansammlung von Flüssigkeit in der Gallenblase zu Stande kommen, die gar keine Galle mehr enthält. Ueber Concremente in der Gallenblase siehe § 652.

638. **Verhalten verschiedenen Einwirkungen gegenüber.** Die Galle ist mit Wasser in jedem Verhältniss mischbar, giebt dagegen mit Alkohol einen reichlichen, flockigen, beim Trocknen sehr schwindenden Niederschlag von Gallenschleim mit etwas Farbstoff und Spuren von diastatischem Ferment; derselbe löst sich in Wasser nur schwer und unvollständig wieder auf.

Verdampft man Galle auf dem Wasserbade zur Trockne, so hinterbleibt ein harziger, spröder, beim Erwärmen erweichender, sehr hygroskopischer Rückstand, der bei der trocknen Destillation in reichlicher Menge ein stark aromatisch riechendes Oel liefert.

Durch Ammonsulfat werden nach Méhu[1]) Gallensäuren, Gallenfarbstoff und Schleim quantitativ ausgefällt. Die Schweinegalle giebt mit krystallisirtem Natriumsulfat in hinreichender Quantität versetzt einen flockigen Niederschlag von hyoglykocholsaurem Alkali, der Niederschlag ist in Wasser wieder leicht löslich; andere Gallensäuren geben diesen Niederschlag nicht, so dass man Schweinegalle auf diese Weise von anderer Galle unterscheiden kann.

Alkalien verändern die Farbe der Galle, bewirken aber keine Niederschläge, während diese durch Säuren reichlich entstehen. Fügt man wenig Essigsäure zur Galle, so wird zunächst nur der Schleim gefällt, ebenso beim Zusatz von einigen Tropfen sehr verdünnter Mineralsäure; durch Zusatz von grossen Säuremengen entstehen Niederschläge von Glykocholsäure zunächst in Flocken, die bald zur harzigen Masse zusammen backen, sich aber in conc. Schwefelsäure mit bräunlicher Farbe und allmählich auftretender starker grünlicher Fluorescenz wieder lösen (Fluorescenzreaction auf Gallensäure S. 265, 2).

Chlorbarium bringt in der frischen Galle keinen Niederschlag hervor, dagegen geben Bleizuckerlösung und Bleiessig und überhaupt viele Salze schwerer Metalle unlösliche Niederschläge, die aus Verbindungen der Gallensäuren mit diesen Metallen bestehen. Fügt man zunächst Bleizuckerlösung hinzu, so wird hauptsächlich Glykocholsäure gefällt, nach völliger Ausfällung mit diesem Reagens giebt Bleiessig noch einen Niederschlag, der hauptsächlich taurocholsaures Blei enthält. Zur völligen Ausfällung dieser Säuren ist Zusatz von etwas Ammoniak ausser dem Bleiessig nöthig.

---

[1]) Journ. de pharm. et de chim. Août 1878.

Beim Stehen an der Luft unterliegt Galle leicht der Fäulniss unter Zunahme der alkalischen Reaction und Abspaltung der in frischer Galle nicht vorhandenen Cholsäure aus Taurocholsäure. Diese grosse Fäulnissfähigkeit hängt mit der Anwesenheit des Gallenschleimes zusammen, denn sobald dieser durch Alkohol ausgefällt ist, zeigt die Flüssigkeit, auch nach Verdunsten des Alkohols, keine Neigung zur Zersetzung mehr. Auch die Farbstoffe erfahren bei der Fäulniss der Galle Veränderungen, doch bleiben sie auch in fauler Galle noch lange Zeit durch die Gmelin'sche Reaction (S. 289, 1) nachweisbar.

Nachweis normaler Bestandtheile der Galle.

639. **Anorganische Bestandtheile.** Da die Galle schwefel- und phosphorhaltige organische Substanzen (Taurocholsäure, Lecithin, Gallenschleim) enthält, so ist eine directe Veraschung aus den § 541 angeführten Gründen unstatthaft, vielmehr in folgender Weise zu verfahren. Man verdunstet die Galle bei niedriger Temperatur zur Trockne, zieht den Rückstand mit absolutem Alkohol aus und erhält so einen in Alkohol unlöslichen Rückstand und einen alkoholischen Auszug.

Der Rückstand, welcher den Schleimstoff der Galle, die Phosphate und Sulfate sowie auch einen Theil der Chloride enthält, wird mit verd. Essigsäure behandelt. Die essigsaure Lösung wird verdunstet, der Rückstand nach § 426 verascht und der wässrige und salzsaure Auszug nach § 431 und § 432 untersucht. Der in verdünnter Essigsäure unlösliche Theil, welcher den Schleimstoff und an Phosphorsäure gebundenes Eisen enthält, wird ebenfalls nach § 426 verascht und die Asche auf Eisen untersucht.

Der alkoholische Auszug, welcher die gallensauren Natronsalze, Lecithin, sowie kleine Mengen von Chloralkalien enthalten kann, wird bei niedriger Temperatur eingedampft und nach Entfernung des Lecithins durch Aether nach § 426 verascht und der wässrige Auszug nach § 431 auf Salzsäure und Alkalien geprüft.

Da die Galle oft Kupfer enthält, ist bei der Untersuchung auf dieses zu achten (vergl. S. 396 ***Anm.).

640. **Gallenschleim.** Man fällt die Galle mit Alkohol, löst den Niederschlag in ganz verdünntem Alkali, fällt wieder und wiederholt Lösung und Fällung. Der aus Menschengalle erhaltene Niederschlag wird nach § 543, 1 a auf Mucin, der aus Rindergalle erhaltene (Nucleoalbumin § 389) nach § 543, 1 b auf Paranucleoproteïd geprüft.

641. **Gallensäuren.** Zum Nachweis dienen die Fluorescenz- und die Pettenkofer'sche Reaction (S. 265, 2 u. 3), die beide direct mit der Galle angestellt werden können.

In den seltenen Fällen, in denen diese Reactionen bei menschlichen Blasengallen versagen, enthalten diese Flüssigkeiten auch keine Gallensäuren mehr.

Zur Isolirung benutzt man das S. 270, 1 beschriebene Verfahren. Die dabei erhaltenen krystallisirten Salze (Plattner's krystallisirte Galle) stellen wohl in allen Fällen Gemenge verschiedener gallensaurer Salze dar und die Gemenge sind wieder bei verschiedenen Thieren verschieden. Bis jetzt hat man wohl nur zwei, die Glyko- und die Taurocholsäure, rein erhalten.

Hammarsten (Cit. 1 S. 525) theilt die von ihm aus menschlichen Gallen isolirten Säuren in 2 Gruppen: Die Alkalisalze der einen Gruppe werden durch wenig Essigsäure und durch Chlorbarium oder Chorcalcium gefällt, die der andern Gruppe nicht oder nur erst durch einen grossen Ueberschuss von Essigsäure. Durch Mineralsäuren, Kupfersulfat, Silbernitrat, Eisenchlorid und Bleizucker werden sie alle gefällt.

In der Rinder- und Menschengalle finden sich Glyko- und Taurocholsäure u. z. in der letzteren weit mehr Glykocholsäure als Taurocholsäure. Der Galle der Fleischfresser scheint die Glykocholsäure zu fehlen, wenigstens liess sich aus der Galle von Hunden, Katzen, Mardern, Eisbären nur Taurocholsäure gewinnen.

Zur Isolirung der Glykocholsäure aus dem Gemenge krystallisirter Alkalisalze oder aus Rindergalle verfährt man nach S. 270. Ueber die Reindarstellung von Taurocholsäure siehe S. 272. Ueber die in der Haifischgalle gefundene Scymnolschwefelsäure siehe § 251.

642. **Cholesterin, Lecithin, Fett.** Die alkoholisch-ätherische Lösung, aus der sich die gallensauren Natronsalze krystallinisch abgeschieden haben (siehe S. 270, 1), hinterlässt beim Verdunsten Cholesterin, Lecithin und Fett (zum Theil krystallisirt). Man nimmt den Rückstand nochmals mit Aether auf, filtrirt und verdunstet. Zum Nachweis des Lecithins prüft man einen Theil des Rückstandes auf Phosphor nach § 56, zum Nachweis des Cholesterins verseift man den Rest nach S. 87, schüttelt die Seifenlösung mit Aether aus und prüft den Aetherrückstand nach S. 260.

Eine in der Galle etwa vorhandene jecorin- oder protagonartige Substanz findet sich auch in jenem Aetherrückstande neben Cholesterin, Lecithin und Fett. Ihr Nachweis lässt sich in folgender Weise versuchen. Man löst den Rückstand in möglichst wenig absolutem Alkohol, fällt mit überschüssigem Aceton, löst den abfiltrirten Niederschlag in Alkohol und verdünnt die filtrirte Lösung mit viel Alkohol. Ein hierbei sich abscheidender Niederschlag wird abfiltrirt, mit Alkohol ausgewaschen und in möglichst wenig Wasser gelöst. Den aus der Lösung auf Zusatz von Alkohol ausfallenden Niederschlag prüft man auf Schwefel und Phosphorgehalt und auf sein Vermögen Kupferoxyd in alkalischer Lösung beim Erwärmen zu reduciren (Hammarsten, Cit. 2 S. 525).

643. **Harnstoff.** Man fällt die Galle mit überschüssigem Alkohol, lässt bis zum nächsten Tage stehen, filtrirt, dampft bei gelinder Temperatur ab, nimmt den Rückstand mit wenig Alkohol auf und fällt den alkoholischen Auszug mit grossem Ueberschuss von Aether. Die nach einiger Zeit klar abgegossene Lösung wird bei niedriger Temperatur verdunstet, der Rückstand in wenig Wasser aufgenommen und die filtrirte Flüssigkeit weiter nach S. 119 behandelt.

644. **Gallenfarbstoff.** Schüttelt man die Galle von Menschen oder fleischfressenden Thieren mit Chloroform, so geht ein Theil des Bilirubins und Cholesterins in Lösung und scheidet sich beim Verdunsten der abgehobenen Chloroformlösung krystallinisch aus. Man löst in ganz verdünntem Alkali und stellt mit der Lösung die Gmelin'sche Reaction (S. 289, 1) an. Um auf Urobilin zu prüfen, entfärbt man nach Hammarsten (Cit. 1 S. 525) am besten die Galle mit Thierkohle (welche das Bilirubin leicht, aber das Urobilin nur schwer zurückhält) und untersucht, ob das Filtrat direct oder nach genügender Concentration den Streifen zwischen den Linien b und F und auf Zusatz von Chlorzink und Ammoniak die Fluorescenzerscheinung zeigt (S. 293).

Eine quantitative Bestimmung hat bisher nicht ausgeführt werden können. Weder die colorimetrische noch die spectrophotometrische Methode ist dazu geeignet, da die Galle, auch die frisch secernirte, neben Bilirubin auch Biliverdin und sehr häufig auch Urobilin oder einen ähnlichen Farbstoff enthält und eine quantitative Trennung dieser Farbstoffe von einander nicht möglich ist.

Nachweis pathologischer Bestandtheile der Galle.

645. **Eiweiss.** Man neutralisirt mit verdünnter Essigsäure vorsichtig und erhitzt zum Kochen: Eiweiss scheidet sich ab. Statt dessen kann man die Galle durch überschüssigen Alkohol fällen und den abfiltrirten und ausgewaschenen Niederschlag mit starker Essigsäure ausziehen. Die filtrirte essigsaure Lösung, welche kein Mucin, aber die Eiweissstoffe enthält, wird auf kleines Vol. verdunstet und mit conc. Glaubersalzlösung versetzt: ein flockiger Niederschlag zeigt die Anwesenheit von Eiweiss an.

Salpetersäure kann zum directen Nachweis von Eiweiss in der Galle nicht benutzt werden, da sie die Gallensäuren fällt.

646. **Zucker.** Man fällt die Galle mit Alkohol und wenig Essigsäure (bis zur sauren Reaction), filtrirt, dampft ein, nimmt den Rückstand mit Wasser auf und prüft die mit Thierkohle möglichst entfärbte wässrige Lösung nach § 92, 4 u. 6.

647. **Leucin und Tyrosin.** Man fällt die Galle mit Bleiessig und etwas Ammoniak völlig aus, filtrirt, entfernt aus dem Filtrat das Blei durch Schwefelwasserstoff, dampft ein und untersucht den Rückstand mikroskopisch auf Krystalle von Tyrosin (§ 205) und Leucin (S. 171 oben). Eine Trennung beider ist nach S. 177 zu versuchen.

648. **Blut.** Da die Galle bei Bluttemperatur binnen kürzester Zeit nicht allein Blutkörperchen auflöst, sondern auch das Oxyhämoglobin in Hämatin und Proteïnstoff spaltet und die Spaltungsproducte zum grössten Theil als unlöslichen Niederschlag abscheidet, so ist Blut nur dann in der Gallenblase zu finden, wenn diese keine Galle enthält. In obiger Weise verändertes Blut findet sich nicht allzu selten. Die Lösung dieser krümligen

Niederschläge in verdünnter Natronlauge lässt auf Zusatz von Schwefelammonium das Spectrum des Hämochromogens erkennen (§ 253).

Bestimmung des Trockenrückstandes in der Galle.

649. Man wägt eine Menge, die bei Lebergalle 10—20 ccm, bei Blasengalle weniger beträgt, in einer kleinen Schale (+ Uhrglas) ab, dampft bei 40—45° ein, trocknet bei 100 bis höchstens 105° bis zum constanten Gewicht und wägt den sehr hygroskopischen Rückstand bei aufgelegtem Uhrglase.

Eine Veraschung und Wägung des Glührückstandes anzuschliessen, hat keinen Zweck, da sich auf diese Weise die Menge der anorganischen Salze nicht genau bestimmen lässt (vergl. § 639).

Bestimmung des Gesammtstickstoffs, des Ammoniaks und einzelner Aschenbestandtheile in der Galle.

650. Man bestimmt den Gesammtstickstoff nach Kjeldahl (§ 453 b), das Ammoniak nach § 549, die einzelnen Aschenbestandtheile nach § 433 ff.

Quantitative Analyse der Galle*).

651. Die Zusammensetzung der Galle ist, wie besonders aus den Untersuchungen von Hammarsten hervorgeht, complicirter als man früher annahm. Da die neu gefundenen Stoffe sich noch nicht hinreichend isoliren und charakterisiren liessen, so ist es unmöglich, genaue Vorschriften für die quantitative Trennung und Bestimmung der einzelnen Gallenbestandtheile zu geben. Dem gegenwärtigen Stande unserer Kenntnisse entspricht am besten folgendes Verfahren von Hoppe-Seyler in der Modification von Hammarsten (Cit. 1 u. 2 S. 525).

Ungefähr 50 g der von etwa vorhandenen zusammenhängenden zähen Massen oder Klümpchen durch Centrifuge befreiten Blasengalle**) werden genau gewogen und mit der annähernd zehnfachen Menge Alkohol gefällt. Nach längerem Stehen wird der Niederschlag auf ein gewogenes aschefreies Filter gebracht, mit kaltem und dann mit warmem Alkohol gewaschen, mit Alkohol in das Becherglas zurückgespritzt, eine Zeit lang auf dem Wasserbade bei 40—45° erwärmt, auf dasselbe Filter gebracht und noch einige Male in dieser Weise behandelt***). Man erhält so einen Filterrückstand (A) und ein alkoholisches Filtrat (B) (+ Waschalkohol).

*) Für Gallen, welche, wie z. B. die Haifischgalle (§ 251), eine von den meisten anderen ganz abweichende Zusammensetzung zeigen, eignet sich dieses Verfahren vermuthlich nicht.

**) Von der sehr viel weniger concentrirten Lebergalle nimmt man je nach dem specif. Gewicht 400—800 ccm.

***) Ein Theil des Farbstoffs haftet fest am Mucin und lässt sich auch durch wiederholte Alkoholbehandlung nicht entfernen.

A. Filterrückstand (Gallenschleim mit etwas anhaftendem Farbstoff und anorganische Salze). Man wäscht mit Essigsäure und essigsäurehaltigem Wasser aus, um anorganische Salze zu entfernen, trocknet bei 100—105°, wägt, verascht, wägt den Ascherückstand und erfährt auf diese Weise die Menge von Gallenschleim (+ etwas Farbstoff) und von Ferriphosphat. Ueber das essigsaure Filtrat, welches Phosphate, Sulfate und Chloride enthalten kann, siehe weiter unten (B 2a). Gallenschleim. Ferriphosphat.

Erweist sich das Auswaschen des Gallenschleimes mit Essigsäure wegen starken Aufquellens als unausführbar, so stellt man das Trockengewicht fest, verascht, wägt wieder und erfährt so die Menge von Gallenschleim und von dem Salzgemenge (Phosphate, Sulfate, Chloride).

B. Alkoholisches Filtrat. Filtrat (+ Waschalkohol) wird bei 40—45° stark eingeengt, mit Aether bis zur beginnenden Fällung und darauf mit einer passenden Menge Wasser*) versetzt. Schüttelt man nun vorsichtig und lässt dann stehen, so trennt sich die Flüssigkeit in eine obere, dunkle, ätherisch-alkoholische (1) und eine untere, fast farblose oder blassgelbe wässrig-alkoholische Schicht (2). Erstere befreit man durch Stehenlassen bei gewöhnlicher Temperatur, dann bei 40° vom Aether, löst den Rückstand in Alkohol und schüttelt die Lösung wieder mit Aether und Wasser. Dasselbe Verfahren wird nochmals wiederholt. Die wässrig-alkoholischen Lösungen werden vereinigt.

1. Aetherisch-alkoholische Lösung. Dieselbe enthält wohl stets Cholesterin, Lecithin und Fett, in manchen Fällen auch eine vermuthlich jecorin- oder protagonartige Substanz, wie sie z. B. in der Eisbärgalle von Hammarsten nachgewiesen worden ist. Man lässt die Lösung bei gewöhnlicher Temperatur verdunsten und trocknet dann bei 40—45°. Bei Abwesenheit der jecorinartigen Substanz wird der Rückstand mit wasser- und alkoholfreiem Aether aufgenommen, ein sich in Aether nicht lösender Rest mit der wässrig-alkoholischen Lösung (2) vereinigt. Die Verarbeitung der ätherischen Lösung geschieht nach § 560 B 3 b. Man erfährt auf diese Weise die Menge von Cholesterin, Lecithin und Fett. Cholesterin, Lecithin, Fett.

Ist die jecorinartige Substanz zugegen (über ihren Nachweis siehe § 642), so sucht man sie zunächst zu entfernen, indem man die mit möglichst wenig absolutem Alkohol hergestellte Lösung mit überschüssigem Aceton fällt. Das Filtrat wird dann verdunstet, der Rückstand mit absolutem Aether aufgenommen und die Lösung nach § 560 B 3 b verarbeitet. Eine völlige Entfernung der jecorinartigen Substanz gelingt aber nicht.

2. Wässrig-alkoholische Lösung. Sie enthält die gallensauren Alkalien, ätherschwefelsaures Alkali, Seifen, Harnstoff, anorganische Salze. Man dampft sie ein, extrahirt den Rückstand mit Alkohol, filtrirt von den unlöslichen Antheilen ab und wiederholt Eindampfen, Lösen und Filtriren

*) Die richtigen Mengen des zuzusetzenden Aethers und Wassers sind vorher an einer kleinen Portion der Flüssigkeit zu ermitteln.

mehrmals, bis der Alkohol nichts ungelöst lässt. Man erhält so einen Rückstand (a) und eine alkoholische Lösung (b).

a) Der Rückstand, welcher aus anorganischen Salzen besteht, wird mit dem Rückstand der oben (A) erwähnten essigsauren Lösung vereinigt, getrocknet, geglüht und verascht. Die Asche wird gewogen. Man erfährt so die Menge der in Alkohol unlöslichen anorganischen Salze mit Ausnahme des schon bestimmten Ferriphosphats (Phosphate, Sulfate, auch wohl ein Theil der Chloride).

Phosphate, Sulfate, Chloride (1).

b) Die alkoholische Lösung wird auf ein kleines Volumen eingeengt und mit Aether gefällt, die ätherische Lösung nach völliger Abscheidung des Niederschlags abfiltrirt, verdunstet, der Rückstand mit wasser- und alkoholfreiem Aether aufgenommen und ein hierbei bleibender Rückstand in Alkohol gelöst und mit der ebenfalls in Alkohol gelösten Aetherfällung vereinigt. Etwa noch vom Aether gelöste Antheile müssten der ätherisch-alkoholischen Lösung (1) zugefügt werden. Die so erhaltene alkoholische Lösung, welche die oben genannten Salze organischer Säuren, Harnstoff und Alkalichloride enthält, wird genau gemessen und in 4 gleichfalls gemessene Portionen getheilt.

1. Portion. Man dampft ein, trocknet bei 100—105°, wägt bei aufgelegtem Uhrglase, verascht und wägt wieder. In der Asche wird die Salzsäure nach § 441 oder § 442 bestimmt und auf Chlornatrium berechnet. Zieht man diesen Werth von dem gefundenen Trockengewicht ab, so bleibt als Rest die Summe von gallensauren Salzen, ätherschwefelsaurem Salz, Seifen und Harnstoff.

Chloride (2).

Summe von gallensauren Salzen, ätherschwefelsaurem Salz, Seifen, Harnstoff.

2. Portion. Man dampft ein und bestimmt den Schwefel nach § 444 oder § 445: Gesammtschwefel als Bariumsulfat.

Gesammtschwefel.

3. Portion. Sie wird auf dem Wasserbade eingedampft und in so viel Wasser gelöst, dass eine etwa 2 proc. Lösung entsteht. Diese Lösung wird mit Chlorbarium versetzt (auf je 50 ccm etwa 10 ccm einer 5 proc. Chlorbariumlösung), nach längerem Stehen von einem event. entstandenen Niederschlage abfiltrirt, das klare Filtrat mit 5 pCt. Salzsäure versetzt, einige Stunden im Wasserbade erwärmt und zur Trockne verdunstet. Den Rückstand behandelt man wiederholt mit Alkohol und Wasser, sammelt ihn auf dem Filter, wäscht mit heissem Wasser, verdünnter Salzsäure, Wasser, Alkohol und Aether aus, glüht und wägt: Schwefel der Aetherschwefelsäure als Bariumsulfat.

Schwefel der Aetherschwefelsäure.

4. Portion. Man verdunstet und bringt die wässerige Lösung des Rückstandes mittelst eines langen Trichterrohres in ein Einschmelzrohr, in dem sich mindestens 5 g krystallisirter Aetzbaryt befindet, spült mit kleinen Mengen Wasser nach, schmilzt etwa 10 cm über dem Flüssigkeitsniveau zu, schüttelt nach dem Erkalten gut um und erhitzt 10—12 Stunden bei 110—120°. Man öffnet nach dem Erkalten vorsichtig, giesst die Flüssigkeit in ein Becherglas aus, spült mit warmem Wasser nach, sättigt die

warme Lösung mit Kohlensäure, erhitzt zum Kochen, filtrirt siedend heiss im Heisswassertrichter und wäscht so lange mit heissem Wasser nach, als sich noch Barium im Filtrat nachweisen lässt.

Der Rückstand, welcher die Barytsalze der Fettsäuren enthält, wird mit Salzsäure zerlegt und mit Aether ausgeschüttelt, die ätherische Lösung abgetrennt und der nach dem Verdunsten des Aethers hinterbleibende Rückstand gewogen: Fettsäuren (Palmitinsäure, Stearinsäure, Oelsäure). Fettsäuren.

Das Filtrat wird mit der Waschflüssigkeit eingedampft. Im Rückstand wird nach § 444 oder § 445 der Schwefel bestimmt: Taurinschwefel Taurinschwefel. als Bariumsulfat.

Berechnung. Ausser den oben bestimmten Werthen findet man durch Rechnung noch folgende:

1. Die Summe der anorganischen Salze (ausser Ferriphosphat) nach B 2 a und B 2 b Portion 1.

2. Den Gehalt an Taurocholsäure*) durch Multiplication des dem Taurinschwefel entsprechenden Bariumsulfats (B 2 b Portion 4) mit 2,2089. Die dem Taurinschwefel entsprechende Menge Bariumsulfat erhält man auch, wenn man das Bariumsulfat, welches der Aetherschwefelsäure (B 2 b Portion 3) entspricht, von dem Bariumsulfat, welches dem Gesammtschwefel entspricht (B 2 b Portion 2) abzieht. (Diese Bestimmung dient zur Controle der directen).

3. Den Gehalt an glykocholsaurem**) (+ ätherschwefelsaurem) Alkali. Man erhält ihn, indem man die berechnete Menge Taurocholsäure durch Multiplication mit 1,043 auf taurocholsaures Natron und die erhaltene Menge Fettsäuren (B 2 b Portion 4) durch Multiplikation mit 1,10 auf Seifen umrechnet und diese beiden Werthe sowie den Gehalt der Galle an Harnstoff***) (§ 643) von dem Werth für gallensaure Salze + ätherschwefelsaures Salz + Seifen + Harnstoff (B 2 b Portion 1) abzieht. Da die Aetherschwefelsäure noch unbekannt ist, so lässt sie sich nicht aus dem ihr entsprechenden Bariumsulfat berechnen und in Abzug bringen. Der für glykocholsaures Alkali gefundene Werth wird also um so ungenauer ausfallen, je mehr Aetherschwefelsäure in der Galle vorhanden ist.

Hoppe-Seyler empfahl für die Bestimmung der Gallensäuren, die Polarisation zu benutzen. Da aber in den Gallen ein Gemenge optisch activer Gallensäuren vorliegt und nur für die Glyko- und Taurocholsäure die specif. Drehung bekannt ist, so lässt sich dieses Verfahren nicht anwenden.

---

*) Taurocholsäure ist jedenfalls nicht die einzige schwefelhaltige gepaarte Gallensäure, aber die einzige gut bekannte. Desshalb ist ihre Zusammensetzung der Rechnung zu Grunde gelegt.

**) Darunter sind glykocholsaures Natron + Natronsalze der anderen noch unbekannten schwefelfreien gepaarten Gallensäuren verstanden.

***) Die kleinen Mengen Harnstoff können mit Rücksicht auf die Ungenauigkeit der Methode im Allgemeinen vernachlässigt werden.

Gallensteine, Gallensedimente.

652. Man kann drei Gruppen von Concrementen in der Gallenblase unterscheiden.

Cholesterinsteine. 1. Cholesterinsteine. Sie sind die beim Menschen am häufigst vorkommenden. Farbe, Form und Grösse sind wechselnd. Alle grösseren Gallensteine gehören in diese Gruppe. Sie zeichnen sich durch krystallinisch glänzende Bruchflächen, Weichheit und niedriges specifisches Gewicht aus. Sie bestehen in der Hauptsache aus krystallisirtem Cholesterin, dem mehr oder weniger Gallenfarbstoff (in Verbindung mit Kalk) und Calciumcarbonat beigemengt ist. Im Centrum der meist concentrisch geschichteten Steine findet sich meist viel mehr Gallenfarbstoff als in den peripherischen Theilen.

Pigmentsteine. 2. Pigmentsteine. Sie sind die bei Rindern am häufigsten vorkommenden, werden aber auch in der menschlichen Blasengalle oft gefunden. Sie haben meist unregelmässige Formen, schwarze Farbe, sind klein und enthalten neben wenig Cholesterin reichlich Farbstoff in Verbindung mit Kalk und gewöhnlich auch etwas Kupfer und Eisen. Der Farbstoff ist meist hauptsächlich Bilirubin, doch sind auch Pigmentsteine, die wesentlich andere Gallenfarbstoffe enthalten, beobachtet worden.

3. Hauptsächlich aus Calciumcarbonat bestehende kleine rundliche Steinchen von gelber oder brauner Farbe. Sie finden sich selten (in Form von Sand und Gries) in der menschlichen Galle, häufiger (auch noch etwas Calciumphosphat enthaltend) bei Rindern.

4. Es werden in der Galle zuweilen flockige, weiche Niederschäge, welche meist amorph, seltener krystallisirt sind und Bilirubin enthalten, beobachtet. (Auch Schleimmassen, gewöhnlich dunkelgrün oder braun gefärbt, sind nicht selten.)

653. **Qualitative Untersuchung.** Man erschöpft die fein gepulverten und (zur Entfernung von Gallenresten) mit Wasser ausgekochten und wieder getrockneten Massen mit einer Mischung von gleichen Theilen Alkohol und Aether, filtrirt und wäscht mit derselben Mischung aus, übergiesst darauf nach Wechseln des Becherglases mit Salzsäure (bei Anwesenheit von Calciumcarbonat entsteht Aufbrausen) und wäscht mit Wasser gut aus. Man erhält so einen alkoholisch-ätherischen (1) und einen salzsauren Auszug (2) und einen Filterrückstand (3).

1. Der alkoholisch-ätherische Auszug wird verdunstet und das Cholesterin. zurückbleibende Cholesterin durch seine Reactionen (S. 260) erkannt.

2. Der salzsaure Auszug wird zur Trockne verdunstet, der Rückstand geglüht, in verd. Salzsäure gelöst und die Lösung nach § 432 auf Anorganische Salze. anorganische Salze untersucht. Man achte auf Kupfer (§ 432 *** Anm.).

3. Der Filterrückstand wird zwischen Filtrirpapier trocken gepresst und in heissem Chloroform gelöst. Der beim Verdunsten der Chloroform-

lösung hinterbleibende Rückstand wird in ganz verdünnter Natronlauge gelöst und die Lösung nach S. 289 auf Bilirubin geprüft. Etwa gleichzeitig vorhandenes Urobilin ist mit Hülfe des Spectroskops zu erkennen (§ 265), am besten nachdem vorher das Bilirubin durch Behandeln der Lösung mit Thierkohle mehr oder weniger vollständig entfernt worden ist. Bilirubin. Urobilin.

654. **Quantitative Untersuchung.** Man geht von einer getrockneten und gewogenen Portion des mit Wasser ausgekochten Steinpulvers aus und verfährt im Ganzen nach den Angaben des vorigen Paragraphen. Im Einzelnen ist noch Folgendes zu bemerken:

Das Cholesterin (1) wird bei 110° getrocknet und gewogen.

Die in 2. erhaltene salzsaure Lösung des Glührückstandes wird durch Schwefelwasserstoff von event. vorhandenem Kupfer befreit. Im Filtrat bestimmt man nach § 434 ff. Kalk, Magnesia, Eisen und Phosphorsäure. Vorhandenes Schwefelkupfer wird mit dem Filter in einem gewogenen Platintiegel bei gutem Luftzutritt bis zur Verkohlung des Filters erhitzt und dann mit Salpeter und etwas Soda geschmolzen. Man behandelt die Schmelze mit Wasser, sammelt das ungelöste Kupferoxyd auf aschefreiem Filter, wäscht aus, trocknet, glüht in demselben Platintiegel und wägt.

Der Filterrückstand (3) (das Gewicht des Filters muss bekannt sein) wird bei 110° getrocknet und gewogen: Gallenfarbstoff.

Untersuchung des Schweisses.

Der Schweiss stellt eine klare wasserhelle Flüssigkeit dar, die von beigemengten Epithelzellen durch Filtration befreit werden kann.

655. **Bestandtheile.** Spuren von Eiweiss, Harnstoff, Kreatinin, Fett, niedere Fettsäuren und fettsaure Alkalien, Cholesterin, Alkalisalze, gepaarte Schwefelsäuren und aromatische Oxysäuren[1]), anorganische Salze (besonders Chloralkalien, ausserdem schwefelsaure und phosphorsaure Alkalien). Nach Einnahme von Benzoësäure soll der Schweiss Hippursäure enthalten. Normale Bestandtheile.

Unter pathologischen Verhältnissen findet sich Zucker bei Diabetes, Harnstoff bei Urämie und Cholera. Im urämischen Stadium der Cholera bei Aufhören der Nierensecretion findet sich die Körperoberfläche zuweilen mit Krystallen von Harnstoff bedeckt. Die Ursache der Klebrigkeit gewisser pathologischer Schweisse ist noch nicht bekannt. Pathologische Bestandtheile.

Bei unreiner Haut unterliegt der mit Schmutz, Epithelzellen und Talgdrüsensecret vermischte Schweiss alsbald nach seiner Secretion einer lebhaften bacteriellen Zersetzung. Ein solcher zersetzter Schweiss enthält in reichlicher Menge flüchtige Fettsäuren und andere übelriechende Stoffe (stinkende Fussschweisse), Leucin, Tyrosin, Ammoniak u. s. w. Zersetzung.

656. **Allgemeine Eigenschaften.** Das spec. Gewicht schwankt zwischen

[1]) Kast, Zeitschr. f. physiol. Chem. II. 501. (1887.)

1003 und 1005 und der Gehalt an festen Stoffen beträgt im Durchschnitt 1 pCt.

Die Reaction des menschlichen Schweisses ist gewöhnlich sauer, kann aber besonders nach reichlichem Schwitzen (Pilokarpin, Schwitzbäder) neutral und alkalisch gefunden werden. Die Vermuthung, dass der reine, frisch secernirte Schweiss stets alkalisch reagirt und die saure Reaction nur durch Beimengung des Secrets der Talgdrüsen oder durch Zersetzungsvorgänge bedingt sei, erscheint unbegründet.

Untersuchung. Sie geschieht wie diejenige einer serösen Flüssigkeit (§ 536 ff.). Für den Nachweis der aromatischen Oxysäuren verfährt man nach § 494, für Nachweis und Bestimmung der gepaarten Schwefelsäuren nach § 463 und § 470.

Den für die Untersuchung zu benutzenden Schweiss sammelt man am Besten während eines Heissluftbades nach sorgfältiger Reinigung der Körperoberfläche und unter antiseptischen Cautelen. Kann die Verarbeitung nicht gleich angeschlossen werden, so ist das Secret sofort mit dem dreifachen Volumen Alkohol zu mischen, um jede Zersetzung auszuschliessen.

Untersuchung der Milch.

Allgemeines.

Die Milch stellt ein in seinen physikalischen Eigenschaften jedem bekanntes Secret dar und besteht aus einer schwach gefärbten Flüssigkeit, dem Milchplasma, in der runde Körperchen von sehr verschiedener, aber stets mikroskopischer Grösse, die Milchkügelchen, suspendirt sind.

Bestandtheile der Milchkügelchen.

657. **Bestandtheile.** Die Milchkügelchen (Fettkügelchen) bestehen aus einem bei gewöhnlicher Temperatur nicht völlig flüssigen, gelbgefärbten Fett und sind von einer sehr dünnen Caseïnhülle umgeben. Das Fett ist ein Gemisch von Tripalmitin, Tristearin und Trioleïn, dem in kleinen Mengen Triglyceride der Myristin-, Laurin- und Arachinsäure und der Butter-, Capron-, Capryl- und Caprinsäure beigemengt sind. Stets finden sich in den Fettkügelchen auch Cholesterin und Lecithin.

Bestandtheile des Milchplasmas.

In dem Milchplasma sind nachgewiesen: Caseïn, Lactalbumin, Globulin, Opalisin (?), Nucleon (?), Milchzucker, Extractivstoffe (kleine Mengen von Harnstoff, Kreatinin, Sulfocyansäure[1]), Citronensäure, Fettsäuren), Cholesterin, Lecithin, anorganische Salze (Kalium, Natrium, Calcium, Magnesium, Eisen gebunden an Phosphorsäure, Salzsäure, Kohlensäure). Unter den Salzen findet sich reichlich Calciumphosphat, ferner mehr Kalium als Natrium und mehr Phosphorsäure als Salzsäure. Propeptone und Peptone kommen in der frischen Milch nicht vor. Die in grösster Menge in der Milch enthaltenen Bestandtheile sind Proteïnstoffe (unter ihnen überwiegt das Caseïn), Fette, Milchzucker und Salze. Der Procentgehalt an diesen

---

[1]) Musso, Maly's Jahresber. 1877. S. 168.

Stoffen ist bei verschiedenen Thierarten verschieden, aber auch innerhalb derselben Art kommen Schwankungen vor, die von der Rasse, der Individualität, der Lactationszeit u. s. w., auch von der Ernährung abhängen.

Folgende Procentzahlen sind lediglich als Mittelwerthe anzusehen: Zusammensetzung.

	Frauenmilch	Kuhmilch	Eselinmilch[1])
Wasser	86,4	88,0	91,23
Trockensubstanz . .	13,6	12,0	8,77
Caseïn	1,0	3,0	0,94
Albumin + Globulin	0,5	0,3	0,53
Fett	4,8	3,5	1,15
Milchzucker	6,6	4,5	6,0
Salze	0,25	0,75	0,4

Die Ziegenmilch ist der Kuhmilch ähnlich zusammengesetzt. Die Stutenmilch zeigt einen ähnlich niedrigen Fettgehalt wie die Eselinmilch. Die Hundemilch ist sehr reich an Fett (9—10 pCt.) und Proteïnstoffen, ärmer an Milchzucker (3—4 pCt.). Eine Zusammenstellung der procentischen Zusammensetzung der Milch verschiedener Thiere siehe bei Pröscher[2]).

Die zu Beginn der Lactation abgesonderte Milch, das sog. Colostrum, enthält zahlreiche Colostrumkörperchen und ist wohl etwas ärmer an Caseïn, Fett und Milchzucker, vor Allem aber sehr viel reicher an gerinnbarem Eiweiss (Albumin und Globulin). Colostrum.

658. Das **Spec. Gewicht** der Frauenmilch und ebenso der Kuh- und Eselinmilch schwankt zwischen 1028 und 1034. In der abgerahmten Milch ist es höher; in abgerahmter Kuhmilch 1032—1036. Da die Milch keine homogene Flüssigkeit darstellt, so lässt sich ihr spec. Gewicht nur mit Hülfe des Pycnometers genau ermitteln; aber auch die weniger genaue Bestimmung mit dem Aräometer giebt für die Beurtheilung der Güte der Marktmilch werthvolle Anhaltspunkte. Es sind für diesen Zweck besondere Aräometerspindeln, auf deren Scala nur die spec. Gewichte von 1015 bis 1040 berücksichtigt sind und die nächste Decimalstelle noch abgelesen werden kann, in Gebrauch (Lactodensimeter). In jedem Falle muss die Milch vor der Bestimmung des spec. Gewichts sorgfältig gemischt werden, damit sich das Fett gleichmässig in der Flüssigkeit vertheilt.

659. **Reaction.** Die Frauenmilch und die Milch der Pflanzenfresser zeigt gegen Lacmus eine alkalische oder amphotere und gegen Phenolpthaleïn eine saure Reaction u. z. ist die Kuhmilch stärker alkalisch (gegen Lacmus) und stärker sauer (gegen Phenolphtaleïn) als die Frauenmilch. Die Eselinmilch steht zwischen beiden. Die Milch der Fleischfresser scheint gegen Lacmus stets sauer zu sein.

1) Ellenberger, Seeliger u. Klimmer, Arch. f. wiss. u. prakt. Thierh. **28.** Heft 3 u. 4. (1902.)

2) Zeitschr. f. physiol. Chem. **24.** 285. (1898.)

660. **Verhalten verschiedenen Einwirkungen gegenüber.** Mit Hülfe der Centrifuge lässt sich eine (wenn auch nicht vollständige) Trennung der Fettkügelchen vom Plasma erreichen; auch schon beim ruhigen Stehen steigt ein grosser Theil der Kügelchen an die Oberfläche. (Aus diesem Grunde ist es nöthig, die Milch vor der Entnahme einer Probe für die quantitative Bestimmung sorgfältig zu mischen.) Beim Schütteln mit Aether wird ein grosser Theil des Fettes von diesem aufgenommen, ohne dass die weisse Farbe der Milch sich ändert; die Milch wird aber hell und durchsichtig, sobald ein wenig Natronlauge hinzugefügt wird, indem diese sofort die die Fetttröpfchen umgebende Caseïnhülle löst und so ein völliges Uebergehen des Fettes in den Aether ermöglicht. Eintragen von Salz in die Milch hat eine Abscheidung der Eiweissstoffe (+ Fett) zur Folge u. z. wird durch Sättigen der Milch mit Ammonsulfat Caseïn, Albumin und Globulin, durch Sättigen mit Magnesiumsulfat Caseïn und Globulin und durch Sättigen mit Natriumchlorid Caseïn ausgefällt. Vorsichtiger Zusatz einer Säure, z. B. Essigsäure, Milchsäure oder Salzsäure bewirkt die Bildung eines Niederschlags, welcher aus Caseïn*) (+ Fett) besteht. Versetzt man Milch mit Natronlauge, so nimmt das Gemisch allmählich, schnell beim Erwärmen, in Folge der Zersetzung des Milchzuckers eine gelbe bis braune Farbe an. Beim Kochen coagulirt frische Milch gewöhnlich nicht (auch wenn vorher Kohlensäure eingeleitet war § 661); eine Coagulation findet nur ausnahmsweise statt, regelmässig im Beginn der Lactation wegen des reichen Gehaltes des Colostrums an Albumin.

Gerinnung der Milch.

Gerinnung durch Mikroorganismen.

661. a) Durch Mikroorganismen. Die Milch verändert sich beim Stehen (in der Wärme bis zu Bruttemperatur schneller als bei niedrigerer Temperatur) unter der Einwirkung von Mikroorganismen (bes. des Bac. acid. lact.), welche aus Milchzucker Säuren (hauptsächlich Milchsäure, auch Bernsteinsäure) bilden. Die Reaction wird mehr und mehr sauer und bei einem bestimmten Säuregrad scheidet sich das Caseïn (+ Fett) aus, indem die ganze Flüssigkeit zur gallertigen Masse wird. Die Gallerte zieht sich allmählich zusammen und presst eine leicht trübe Flüssigkeit aus, das Milchserum oder die sauren Molken. Die Thätigkeit der Mikroorganismen geht weiter und hört erst auf, wenn die Flüssigkeit ungefähr 4 pCt. Milchsäure enthält. Um die Milchsäure zu isoliren, dampft man das abfiltrirte Milchserum auf dem Wasserbade ein, schüttelt den mit Phosphorsäure angesäuerten dünnflüssigen Syrup mit Aether aus und verfährt weiter nach S. 66.

Schon lange vor der spontanen Gerinnung lässt sich die Zunahme der Säure daran erkennen, dass das Caseïn durch einen Strom Kohlensäure

*) Das Frauenmilchcaseïn wird schwieriger gefällt (§ 383).

und nachheriges Erhitzen zum Kochen fällbar wird. Es folgt dann ein Stadium, bei dem Kochen allein (ohne Kohlensäure) das Caseïn zur Abscheidung bringt und bei weiterer Säurezunahme genügt Kohlensäure allein, bis schliesslich die Gerinnung freiwillig erfolgt.

Ein beim Kochen einer Milch von normaler Reaction entstehendes Coagulum kann nur aus Albumin (+ Globulin) bestehen. Ist aber die Reaction sauer, so versetzt man zur Entscheidung der Frage, ob der beim Erhitzen entstehende Niederschlag Caseïn oder Albumin ist, die Milch mit einigen Tropfen einer Lösung von Natriumphosphat bis zur schwach sauren Reaction, schüttelt um und kocht auf. Eine durch Anwesenheit von viel Albumin bedingte Gerinnung erfolgt auch jetzt, während Caseïn sich nicht mehr abscheidet.

Gerinnung durch Labferment.

b) Durch Labferment (§ 383 u. § 418). Die Gerinnung der Kuhmilch auf Zusatz von Labferment erfolgt ohne Aenderung der Reaction, sehr schnell bei Körpertemperatur. Das Gerinnsel besteht aus Paracaseïn (+ Fett). Das ausgepresste Milchserum enthält noch die ganze Menge des Milchzuckers und wird im Gegensatz zu den sauren Molken (vergl. a) süsse Molken genannt.

Die Gerinnung der Frauen- und Eselinmilch durch Labferment erfolgt nur unvollkommen in Form zarter dünner Flöckchen.

Qualitative Untersuchung der Milch.

662. a) In der Kuhmilch und der Milch anderer Thiere (mit Ausnahme der Eselinmilch*). Etwa 100 ccm Milch werden mit der 5fachen Menge Wasser verdünnt, vorsichtig mit verdünnter Essigsäure ausgefällt und weiter nach den Prinzipien behandelt, wie sie § 668 für die quantitative Bestimmung angegeben sind. Man erhält auf diese Weise 1. einen durch Essigsäure hervorgerufenen und mittelst Alkohol und Aether extrahirten Niederschlag (Caseïn), 2. einen durch Kochen hervorgerufenen Niederschlag (Albumin + Globulin), 3. einen Aetherextract (Fett, Lecithin, Cholesterin) und 4. eine wässrige Lösung (Milchzucker, Salze). Die Untersuchung geschieht in folgender Weise:

1. **Caseïn.** Man verreibt es mit ganz verdünnter Natronlauge, filtrirt und fällt das Filtrat mit Essigsäure vorsichtig aus. Der abfiltrirte und ausgewaschene Niederschlag wird nach § 54 auf Stickstoff, nach § 56 auf Phosphor, nach § 55 auf Schwefel geprüft und event. weiter nach den Angaben von § 383 untersucht.

2. **Albumin + Globulin.** Die Probe auf Stickstoff (§ 54), auf Schwefel (§ 55) und die Farbenreactionen (§ 280 B) fallen positiv, die Probe auf Phosphor (§ 56) negativ aus.

---

*) Ueber die Untersuchung der Eselinmilch siehe Ellenberger, Seeliger und Klimmer a. a. O.

3. **Fett, Lecithin, Cholesterin.** Man prüft zunächst eine kleine Menge nach § 56 auf Phosphor (positiver Ausfall dient als Nachweis für Lecithin), dann eine andere nach S. 84 auf Fettsäuren. Nach ihrer Entfernung in der S. 84 angegebenen Weise wird die ganze Menge des Fettes nach S. 87, 1 oder 2, verseift und die Seifenlösung weiter in der dort angegebenen Weise behandelt. Vor dem Ansäuern mit Schwefelsäure schüttelt man noch mit Aether aus, verdunstet den Aether und prüft den Rückstand nach S. 260 auf Cholesterin.

4. **Milchzucker, Salze.** Der Nachweis des Milchzuckers geschieht nach § 99. Um die anorganischen Salze nachzuweisen, dampft man die Flüssigkeit ein (während dessen scheidet sich schon Calciumphosphat ab), verascht den Rückstand nach § 426 und stellt einen wässrigen und einen salzsauren Auszug her, deren Untersuchung nach § 431 und § 432 ausgeführt wird.

Nach Siegfried findet sich in dieser Lösung ausser Milchzucker und Salzen auch noch das Nucleon, dessen Isolirung als Eisenverbindung nach S. 372 oben geschieht. Vergl. § 668 a 2.

b) In der Frauenmilch. Das Verfahren ist dasselbe, nur muss die Ausfällung des Caseïns durch Essigsäure und Kohlensäure in der Wärme vorgenommen werden. Vergl. § 668 b.

Nachweis pathologischer Beimengungen in der Milch.

663. Als solche kommen, so weit bekannt, nur Blutfarbstoff, Blut oder Eiter vor. Hämoglobin und Blut erkennt man an der Farbe, letzteres auch durch das Mikroskop; Eiter nur mikroskopisch und auch auf diesem Wege nur dann, wenn er reichlich vorhanden ist.

Die häufig auf der gestandenen Milch beobachteten blauen Flecke rühren von Mikroorganismen (Bac. cyanogenus) her.

Bestimmung des Trockenrückstandes in der Milch.

664. Man misst 5—10 ccm der gut gemischten Milch in einem Schälchen (+ Uhrglas) genau ab, dampft bei 50—60° ein und trocknet zunächst im Vacuum über Schwefelsäure, dann bei einer Temperatur, die 100° nicht übersteigt (am besten im Vacuum bei 95—100°) bis zum constanten Gewicht. Wegen der stark hygroskopischen Eigenschaften des Rückstandes wägt man bei aufgelegtem Uhrglase.

Sobald die Milch zu trocknen beginnt, färbt sie sich in Folge einer geringen Zersetzung des Milchzuckers bräunlich. Will man den dadurch bedingten Fehler, der allerdings so unbedeutend ist, dass er vernachlässigt werden kann, vermeiden, so ist das Trocknen im Vacuum über Schwefelsäure bis zum constanten Gewicht fortzusetzen. Das erfordert natürlich lange Zeit.

Bestimmung des Gesammtstickstoffs und einzelner anorganischer Bestandtheile in der Milch.

665. Der Gesammtstickstoff wird nach § 453b, der Gesammtschwefel nach § 444, das Gesammteisen nach § 435, die Gesammt-

phosphorsäure nach § 448, Kalium und Natrium nach § 433, Calcium und Magnesium nach § 434, Salzsäure nach § 440 bestimmt. Man benutzt 5 ccm Milch, um den Stickstoff, 200 ccm, um Eisen, 15 bis 25 ccm, um die übrigen Stoffe zu bestimmen.

Bestimmung des Gesammtproteïnstoffgehaltes in der Kuh- und Frauenmilch.

666. Verfahren nach Sebelien[1]. 5 oder 10 ccm Milch werden mit mindestens 9 Vol. Wasser verdünnt, mit etwas Kochsalzlösung versetzt und in der Kälte mit Almén'scher Gerbsäurelösung (Anh.) im Ueberschuss (etwa $1^1/_2$fache Menge der Milch) gefällt. Der Niederschlag wird abfiltrirt (man bringe zuerst die überstehende Flüssigkeit und zuletzt erst den Niederschlag auf das Filter), mit kaltem Wasser ausgewaschen und sammt Filter nach Kjeldahl (§ 453b) behandelt. Multiplikation des erhaltenen Stickstoffwerthes mit 6,37 giebt den Proteïnstoffgehalt. nach Sebelien.

667. Verfahren nach Ritthausen[2]-Munk[3]. 10 ccm Milch werden in einem 250 ccm fassenden Becherglase mit Wasser auf 100 ccm verdünnt (bei Frauenmilch genügt schon Verdünnung auf 60 ccm), falls die Reaction deutlich alkalisch ist, neutralisirt, erhitzt, zuerst 1—2 ccm Alaunlösung, dann, wenn die Flüssigkeit eben in's Sieden geräth, 2—5 ccm von aufgeschwemmtem Kupferoxydhydratbrei*) hinzugefügt und einige Minuten im Sieden erhalten. Der zumeist feinflockige Niederschlag, welcher sich, sobald die Mischung vom Feuer genommen ist, schnell absetzt, wird noch warm abfiltrirt, auf dem Filter mit heissem Wasser ausgewaschen und sammt Filter noch feucht nach Kjeldahl (§ 453b) behandelt. Umrechnung auf Proteïnstoff wie beim vorstehenden Verfahren. nach Ritthausen-Munk.

Beide Methoden geben die gleichen Werthe.

Bestimmung von Caseïn, Albumin + Globulin, Milchzucker und Fett in der Milch.

668. a) In der Kuh- und Ziegenmilch und der Milch anderer Thiere (ausser Eselinmilch). Man misst von der gut gemischten Milch 20 ccm ab oder wägt eine entsprechende Menge, vermischt sie in einem Becherglase mit etwa 380 ccm Wasser, fügt unter Umrühren sehr verdünnte Essigsäure tropfenweise hinzu, bis ein flockiger Niederschlag sich zeigt, leitet in thierischer Milch.

---

*) Man stellt denselben nach Stutzer so dar: 100 g krystallisirtes Kupfersulfat werden in 5 Liter Wasser gelöst und mit 2,5 g Glycerin versetzt. Aus dieser Lösung wird durch Zusatz verdünnter Natronlauge bis zur alkalischen Reaction das Kupfer als Hydrat ausgefällt. Es wird abfiltrirt und durch Anreiben mit 0,5 pCt. Glycerin enthaltendem Wasser aufgeschlemmt, durch wiederholtes Decantiren und Filtriren von den letzten Spuren Alkali befreit, der Filterrückstand mit 10 pCt. Glycerin enthaltendem Wasser verrieben und zu einer solchen Verdünnung gebracht, dass eine gleichmässige mit der Pipette aufsaugbare Masse entsteht. Diese ist, in dunkler Flasche aufbewahrt, haltbar.

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **13**. 157. (1889.)
J. Munk, Arch. f. path. Anat. **134**. 501. (1893).

[2]) Journ. f. prakt. Chem. N. F. **15**. 329. (1877.) [3]) a. a. O.

dann $^1/_4-^1/_2$ Stunde Kohlensäure hindurch und lässt bis zum nächsten Tage stehen. Es ist zweckmässig, drei Portionen in dieser Weise zu behandeln und diejenige, bei der die Abscheidung am besten gelungen ist, weiter zu verarbeiten. Man bringt zuerst die klare Flüssigkeit, dann den Niederschlag (zuletzt mit Hülfe kleiner Mengen des Filtrats) auf ein stickstofffreies Filter und wäscht mit Wasser nach. Man erhält so einen Filterrückstand (1) und ein Filtrat (2).

1. Der Filterrückstand, welcher Caseïn und Fett enthält, wird mit starkem Alkohol übergossen, das Filtrat, in einem Becherglase aufgefangen, so lange zurückgegossen, bis es klar abläuft und dann bei niedriger Temperatur (unter 60°) verdunstet. Jetzt nimmt man den Rückstand mit Aether auf, bringt die ätherische Lösung in den Kolben eines Soxhlet'schen Extractionsapparates, spült mit Aether nach, bringt andererseits den alkoholfeuchten Niederschlag in das Extractionsgefäss desselben Apparates und extrahirt längere Zeit. Der das Fett enthaltende Aether (+ Waschäther) wird nun in einem gewogenen Becherglase verdunstet, im Exsiccator oder im Vacuumexsiccator getrocknet und gewogen: Fett. Das Caseïn (mit dem Filter) wird nach Kjeldahl (§ 453b) behandelt (100 ccm $^n/_{10}$ Säure!). Der gefundene Stickstoffwerth ergiebt, mit 6,37 multiplicirt, das Caseïn.

Fett.

Caseïn.

Das ausgefällte Caseïn (+ Fett) kann auch auf aschefreiem, bei 120° getrocknetem und gewogenem Filter gesammelt und nach der Entfettung wieder bei 120° bis zum constanten Gewicht getrocknet und gewogen werden. In diesem Falle ist es nöthig, Filter + Caseïn im Platintiegel mit kleiner gewogener Menge Eisenoxyd zu veraschen und das Gewicht der Asche in Abzug zu bringen. Ebenso lässt sich auch das Albumin + Globulin (siehe 2) gewichtsanalytisch bestimmen. Eine Veraschung ist dabei nicht nöthig.

2. Das Filtrat, welches Albumin + Globulin, Milchzucker und etwas gelöste Proteïnsubstanz enthält, wird in einer Porzellanschale zum Kochen erhitzt und einige Minuten im Sieden erhalten. Man sammelt den entstandenen Niederschlag auf stickstofffreiem Filter, wäscht mehrmals mit kaltem Wasser und behandelt Filter und Niederschlag nach Kjeldahl. Der gefundene Stickstoffwerth mit 6,37 multiplicirt ergiebt Albumin + Globulin. Das Filtrat (+ Waschwasser) wird nach dem Erkalten gut gemischt und gemessen. Man füllt mit der Flüssigkeit eine Bürette und benutzt sie zur Titration von 20 ccm Fehling'scher Lösung, die mit 80 ccm Wasser verdünnt sind, in der § 498 angegebenen Weise. Da 20 ccm Fehling'sche Lösung 0,134 g Milchzucker entsprechen, ist der Gehalt der ganzen Flüssigkeitsmenge an Milchzucker leicht zu berechnen.

Albumin + Globulin.

Milchzucker.

Der für die Titration nicht gebrauchte Rest wird gemessen und bei mässiger Wärme zum dünnen Syrup eingedampft. Dabei scheidet sich noch etwas Proteïnstoff ab. Hoppe-Seyler hält ihn für Caseïn und schreibt vor, ihn in derselben Weise wie die Hauptmenge des Caseïns zu bestimmen und diesem hinzuzurechnen. Es könnte sich aber auch um erst nachträglich abgeschiedenes Albumin oder Globulin oder um einen Körper eigener Art

handeln. In letzterer Beziehung wäre an das Nucleon von Siegfried zu denken, welches nach Siegfried aus der mit Wasser verdünnten, durch Essigsäure und Kohlensäure von Caseïn und durch Aufkochen von Albumin und Globulin befreiten Milch als Eisenverbindung isolirt wird (S. 371 unten). Die Entscheidung dieser Frage ist besonders mit Rücksicht auf die Auffassung des Nucleons als eines individuellen Körpers von Bedeutung.

b) In der Frauenmilch. In der beschriebenen Ausführung eignet sich diese Methode für menschliche Milch nicht, weil das Frauenmilchcaseïn durch Essigsäure und Kohlensäure nur unvollkommen gefällt wird (Hoppe-Seyler). Nach J. Schmidt[1]) kann aber das Verfahren auch für diese Milch benutzt werden, wenn die Milch-Wassermischung während des Ansäuerns mit Essigsäure und während des halbstündigen Einleitens der Kohlensäure auf 40° gehalten wird. in der Frauenmilch.

Bestimmung von Caseïn, der Summe der übrigen Proteïnstoffe und Fett in thierischer Milch*) nach Schlossmann[2]).

669. Man verdünnt 10 ccm gut gemischter Milch (abgemessen oder abgewogen) mit 30—50 ccm Wasser, erwärmt vorsichtig auf dem Wasserbade auf 40°, fügt 1 ccm einer conc. Kalialaunlösung hinzu und wartet unter Umrühren ab, ob eine mittelflockige Coagulation und rasches Absitzen der Coagula erfolgt. Ist das nicht der Fall, so fügt man weiter $1/2$ ccm der Alaunlösung hinzu, rührt um, wartet $1/2$ Min. und fährt in dieser Weise fort, bis Coagulation und Abscheidung erfolgt. Die Temperatur soll andauernd 40° betragen; ein kleiner Ueberschuss von Alaunlösung (bis 1 ccm) schadet nichts. Man wartet nun noch einige Minuten und filtrirt dann durch ein stickstofffreies Filter. Läuft die Flüssigkeit trübe durch, so muss das Filtrat zurückgegossen werden, bis es völlig klar ist. Zuletzt wird mehrmals mit Wasser gewaschen.

Der Filterrückstand, welcher Caseïn und Fett enthält, wird nach § 668 a 1 weiter behandelt. Soll keine Fettbestimmung ausgeführt werden, so schliesst man direct das Kjedahlverfahren an (§ 453 b). Caseïn, Fett.

Die nach diesem Verfahren gefundenen Werthe für Caseïn stimmen mit den durch Essigsäure- und Kohlensäurefällung (§ 668) erhaltenenen überein (Simon[3]).

Das Filtrat wird mit 10 ccm Almén'scher Lösung (Anh.) versetzt, der entstehende voluminöse Niederschlag abfiltrirt, mit Wasser gewaschen und nach Kjeldahl verbrannt. Der gefundene Stickstoff mit 6,34 multiplicirt ergiebt die Menge Proteïnstoffe, welche ausser dem Caseïn in der Milch enthalten ist. die übrigen Proteïnstoffe.

*) Nach Schlossmann Kuh-, Ziegen-, Schweine- und Eselinmilch.

1) Maly's Jahresber. 1884. S. 175.

2) Zeitschr. f. physiol. Chemie. **22**. 221. (1897.)

3) Ebendas. **33**. 498. (1901.)

Bestimmung von Caseïn (+ Globulin) und Albumin in menschlicher und thierischer Milch.

670. Man misst oder wägt 10 ccm der gut gemischten Milch ab, fügt 30—40 ccm gesättigte Magnesiumsulfatlösung und etwas mehr pulverisirtes Magnesiumsulfat, als sich zu lösen vermag, hinzu, lässt unter häufigem Umrühren einige Stunden stehen, filtrirt dann durch ein stickstofffreies Filter ab und wäscht mehrmals mit gesättigter Magnesiumsulfatlösung nach. Die Filtration geht nur langsam von Statten, die Anwendung der Wasserstrahlpumpe bietet eher Nachtheil als Vortheil.

Der Niederschlag, welcher Caseïn, Globulin und Fett enthält, wird direct oder nach Entfernung des Fettes (§ 668a 1) nach Kjeldahl (§ 453b) behandelt und der gefundene Stickstoffwerth mit 6,37 multiplicirt: Caseïn + Globulin.

Caseïn + Globulin.

Das Filtrat (+ Waschwasser) wird mit etwas Wasser verdünnt, mit Essigsäure angesäuert, zum Kochen erhitzt und einige Minuten im Sieden erhalten. Der durch ein stickstofffreies Filter abfiltrirte und mit Wasser gewaschene Niederschlag wird nach Kjeldahl behandelt und der gefundene Stickstoff mit 6,37 multiplicirt: Albumin.

Albumin.

Bestimmung des Fettes in der Milch.

671. Die in den §§ 668—670 beschriebenen Methoden gestatten auch eine genaue Bestimmung des Fettes in der § 668a 1 angegebenen Weise. Diese Verfahren sind indessen zu umständlich, wenn es sich lediglich um eine Ermittelung des Fettgehaltes handelt.

Von den vielen speciell für die Zwecke der Fettbestimmung vorgeschlagenen Verfahren sollen die drei folgenden beschrieben werden; die beiden ersten sind gewichtsanalytische, das dritte ist ein aräometrisches.

Bestimmung: im Soxhlet-schen Extractions-apparat.

a) Man bringt 5—10 ccm der gut gemischten Milch tropfenweise auf reinen ausgeglühten Sand, der sich in der Papierhülse des Soxhlet'schen Extractionsapparats befindet, trocknet längere Zeit bei 100° und extrahirt nun mit Aether. Die ätherische Lösung wird dann unter Nachspülen mit Aether in ein gewogenes Becherglas übergeführt und verdunstet; der Rückstand wird sodann gewogen.

nach Hoppe-Seyler.

b) Nach Hoppe-Seyler. Man bringt 30 ccm Milch in einer gut verschliessbaren Flasche mit etwa 1,5 ccm starker Kalilauge (1,27 spec. Gew.) und etwa 100 ccm Aether zusammen und bewirkt durch vorsichtige drehende Bewegungen während längerer Zeit eine ausgedehnte Berührung beider Flüssigkeiten. Ein starkes Schütteln ist wegen der dabei leicht eintretenden Emulsionsbildung zu vermeiden. Nach guter Trennung beider Schichten giesst man die klare ätherische Lösung durch ein trocknes Filter in einen geräumigen Kolben, bringt eine neue Aetherportion zu der Milch hinzu, mischt wieder in derselben Weise, filtrirt durch das gleiche Filter in denselben Kolben und wiederholt das so lange, bis eine Probe der abgegossenen Aetherlösung beim Verdunsten in einem Becherglase keinen be-

achtenswerthen Fettrückstand hinterlässt. Man destillirt jetzt einen grossen Theil des Aethers ab, bringt den Rest in ein gewogenes Becherglas, spült mit kleinen Mengen Aether nach, verdunstet den Aether, trocknet im Exsiccator oder Vacuumexsiccator und wägt.

e) Nach Soxhlet. nach Soxhlet.

Princip. Man führt das Fett in ätherische Lösung über, bestimmt das specifische Gewicht und die Temperatur dieser Lösung und liest aus einer Tabelle den Fettgehalt ab.

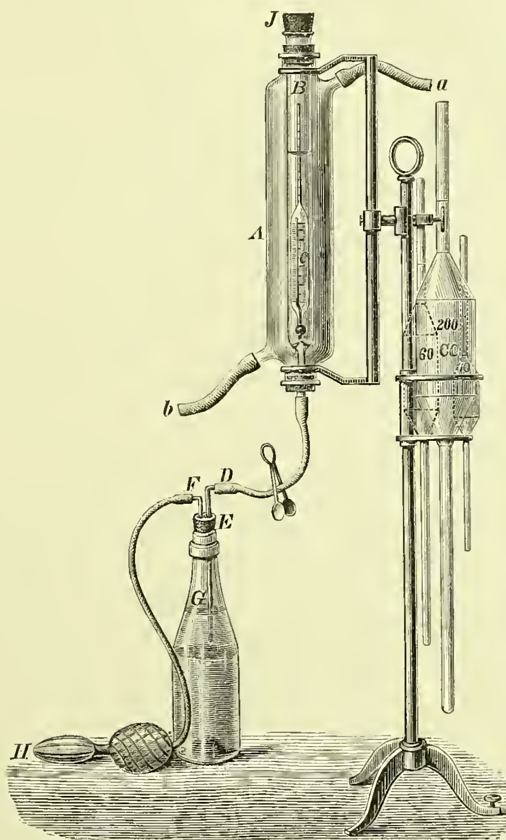


Fig. 18.

Erforderliche Lösungen und Apparate: 1. Kalilauge vom spec. Gewicht 1,27,

2. mit Wasser gesättigter Aether,

3. ein grosses Gefäss mit etwa 4 Liter Wasser von 17—18° gefüllt und zum Einstellen der Milchflasche *(G)* bestimmt.

4. Der in Fig. 18 abgebildete Apparat*): Je eine Pipette zu 200, 60 und 10 ccm. Das Gefäss *B*, welches, von einem Wassermantel *A* umgeben, oben durch einen Stopfen *J* verschlossen ist und sich nach unten verjüngt. Ueber diese Verjüngung ist ein Gummischlauch gezogen, welcher das Gefäss mit dem rechtwinklig gebogenen Glasrohr *D* ver-

*) Derselbe wird von Johannes Greiner in München hergestellt.

bindet. Dieses Rohr steckt in der einen Bohrung des die Flasche *G* (von 300 ccm Inhalt) verschliessenden Stopfens *E*, die andere Bohrung füllt ein unter dem Stopfen abschneidendes Rohr *F* aus, das mit dem Gebläse *H* verbunden ist. In dem Gefäss *B* befindet sich das feine mit Thermometer versehene Aräometer *c*. Dasselbe ist sehr zerbrechlich und vorsichtig einzuführen u. z. nachdem man das Gefäss (durch Verstellen des um seine horizontale Achse drehbaren Trägers) in eine ziemlich wagerechte Lage gebracht hat.

Ausführung. Man bringt 200 ccm der 17—18° warmen und gut gemischten Milch in die Flasche *G*, fügt 10 ccm Kalilauge und nach Umschütteln 60 ccm Aether von 17,5—18,5° hinzu, verschliesst sofort mit einem soliden Kautschukstopfen und schüttelt 1/2 Minute lang gut durch. Jetzt wird die Flasche in das Wasser von 17—18° eingesetzt und 1/4 Stunde darin gelassen, indem man in Zwischenräumen von einer halben Minute 3—4 senkrechte Stösse ausführt*). Man lässt dann noch eine Viertelstunde ruhig stehen, während dessen die Abscheidung der Aetherschicht durch einige drehende Bewegungen beschleunigt wird. Meist sammelt sich in dieser Zeit der klare Aether in genügender Menge oben an; nur sehr fettreiche Milch erfordert längere Zeit, selbst 1—2 Stunden. Jetzt füllt man das Gefäss *A* mit Wasser von 17—18°, verschliesst den Schlauch durch eine Klemme (Fig. 18), setzt auf die Milchflasche *G* den mit den Glasröhren versehenen Stopfen auf, schiebt das Rohr *E* bis auf die unterste Schicht reiner Aetherlösung und erzeugt mittelst des Gebläses *H* einen positiven Druck in der Milchflasche. Nun wird unter Lüftung des Stopfens *J* und vorsichtigem Oeffnen der Klemme Aether in das Gefäss *B* getrieben und darauf sofort Stopfen und Klemme wieder geschlossen. Schwimmt das Aräometer noch nicht, so verfährt man weiter in derselben Weise, bis genügend Aether übergetreten ist. Nach Senkrechtstellung des Apparates (durch Drehen der Schraube am Fuss des Stativs) wird die dem Theilstrich, bis zu der das Aräometer eingesunken ist, entsprechende Zahl und die Temperatur abgelesen. Nach jedem Versuch sind das Gefäss *B*, das Rohr *D* und der sie verbindende Schlauch mit Aether zu reinigen.

Berechnung. War die Temperatur der Aetherlösung 17,5°, so ist keine Correctur nöthig, anderenfalls ist für jeden Zehntelgrad, den das Thermometer höher steht, 0,1 zur Angabe des Aräometers hinzuzufügen und für jeden Zehntelgrad, den es tiefer steht, 0,1 von der Angabe abzuziehen. Aus der Tabelle (Anh.) liest man den der abgelesenen bezw. corrigirten Zahl entsprechenden Procentgehalt an Fett ab. Die Zahlen, welche in der Tabelle als spec. Gewichte angegeben sind, sind die Ergänzungen für 0,7000 in der zweiten bis vierten Decimalstelle. 43,0 entspricht also dem spec. Gewicht 0,7430.

Bestimmung des Milchzuckers in der Milch.

durch Polarisation.

672. 1. Durch Polarisation. Man bringt 50 ccm der gut gemischten Milch in einen Kolben von etwa 150 ccm Inhalt, fügt 25 ccm einer Lösung

*) Diese Vorschriften sind genau zu befolgen.

von neutralem Bleiacetat hinzu, verschliesst mit einem Stopfen, in dessen Durchbohrung das untere Ende eines geraden, ungefähr 30 cm langen Glasrohres steckt, und erhitzt nach gutem Umschütteln mit kleiner Flamme zum einmaligen Aufkochen. Nach völligem Erkalten, während dessen der entwickelte und im Glasrohr verdichtete Dampf wieder zurückgeflossen ist, wird durch ein trockenes Filter in ein trockenes Gefäss filtrirt und das klare (event. mehrfach auf das Filter zurückgegossene) Filtrat polarisirt. Betrug die Länge des Rohres 2 Decimeter, die Temperatur 20°, der abgelesene Winkel α und der Gehalt des Milchzuckers in 100 ccm Milch x, so ist, da die spec. Drehung des Milchzuckers bei Natriumlicht und bei $20^0 + 52{,}53$ beträgt (§ 98) $x = \frac{a\,.\,100}{52{,}53\,.\,2}\,.\,\frac{3}{2} = a\,.\,1{,}4277$ (§ 32).

Wurde die Bestimmung mit einem Saccharimeter (§ 34) ausgeführt und wurden die Procente Traubenzucker p abgelesen, so ist (die specifische Drehung des Traubenzuckers bei Natriumlicht zu 52,6 angenommen):

$$x = \frac{p\,.\,52{,}6}{52{,}53}\,.\,\frac{3}{2}$$

Da die Farbendispersion bei der Circumpolarisation durch Trauben- und Milchzucker nicht merklich verschieden ist, so gilt der für Natriumlicht gefundene Quotient auch für weisses Licht.

2. Durch Titration mit Fehling'scher Lösung. Die Ausführung dieser Bestimmung, welche die vorherige Entfernung der Proteïnstoffe erfordert, ist schon § 668 beschrieben worden. Die kleinen Mengen Proteïnkörper, welche nach Fällung mit Essigsäure, Kohlensäure und Kochen noch gelöst bleiben, beeinträchtigen die Genauigkeit nicht. durch Titration.

Bestimmung des Stickstoffs der Extractivstoffe in der Milch.

673. Man erfährt die Menge des Stickstoffs der Extractivstoffe durch Subtraction des nach § 666 ermittelten Stickstoffs der Gesammtproteïnstoffe von dem nach Kjeldahl (§ 453 b) ermittelten Gesammtstickstoff der Milch oder auch in der Weise, dass man die gesammten Filtrate der nach § 666 erhaltenen Niederschläge auf ein kleines Volumen einengt und in diesem den Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt.

Quantitative Analyse der Milch.

674. Dieselbe wird ausgeführt nach den für die quantitative Analyse der serösen Flüssigkeiten angegebenen Vorschriften (§ 560).

Bestimmung der Citronensäure in der Milch nach A. Scheibe[1]).

675. Abscheidung. 400 ccm Milch werden mit 4 ccm 2,5 n. Schwefelsäure versetzt, aufgekocht, nach Zufügen von 10 g spanischer Klärerde, die mit Wasser zu einem dicken Schleim angerührt sind, nochmals aufgekocht und nach dem Erkalten quantitativ in einen Halblitermaasskolben unter Nachspülen mit Wasser übergeführt. Man

---

[1]) Die landwirthschaftlichen Versuchsstationen. 39. 153. (1891).

füllt bis zur Marke mit Wasser auf, mischt und filtrirt. (Ist das Filtrat nicht klar, so muss nochmals spanische Klärerde angewendet werden.) Man misst jetzt 100 ccm des Filtrates ab, fügt so viel Barytwasser hinzu, dass die zugefügte Schwefelsäure gerade gesättigt und die ursprüngliche Reaction der Milch wieder hergestellt ist, dampft zum Syrup ein und fügt 3,2 ccm 2,5 n. Schwefelsäure (eine Menge, die genügt, um die Citronensäure frei zu machen), darauf allmählich 20 ccm abs. Alkohol und nach kurzem Absitzenlassen 60 ccm Aether hinzu. Dadurch wird aller Milchzucker ausgefällt, während die Citronensäure in Lösung bleibt. Die Mischung wird durch Baumwolle in einen Destillationskolben filtrirt, das Filtrat mit alkoholischem Ammoniak (100 ccm conc. Ammoniak, 900 ccm Alkohol) bis zur bleibenden Trübung versetzt und bis auf etwa 20 ccm abdestillirt. Aus dem Rückstande scheidet man durch Zufügen von 60 ccm abs. Alkohol und 10 ccm alkoholischem Ammoniak die Citronensäure als Triammoniumverbindung völlig ab. Der beim Stehen sich abscheidende Niederschlag enthält ausserdem noch etwas schwefelsaures, phosphorsaures und salzsaures Ammoniak und ein wenig organische Substanz, die durch Wiederholung der Fällung mit alkoholischem Ammoniak entfernt werden muss.

Ein Gehalt der Milch an Milchsäure ist ohne Nachtheil, da diese Säure durch alkoholisches Ammoniak nicht gefällt wird.

Bestimmung.

Princip. Die Citronensäure wird mit einer bestimmten Menge Kaliumbichromat versetzt und das zur Oxydation der Citronensäure nicht gebrauchte Bichromat durch Titration mit Ferroammonsulfat zurückgemessen.

Erforderliche Lösungen. 1. Eine 4,61 proc. Lösung von Kaliumbichromat. 1 ccm derselben sollte nach der Gleichung $C_6H_8O_7 + 6\,CrO_3 = 6\,CO_2 + 3\,Cr_2O_3 + 4\,H_2O$ 0,01 g Citronensäure entsprechen; nach den ausgeführten Titrirungen entspricht er aber 0,0102 g. 2. Eine Lösung, die in 1000 ccm 150 g Ferroammonsulfat und 100 ccm conc. Schwefelsäure enthält. Um den Wirkungswerth dieser Lösungen zu einander festzustellen, misst man 20 ccm der letzteren ab, fügt 80 ccm Wasser hinzu und lässt aus einer Bürette die Kaliumbichromatlösung hinzufliessen, bis ein Tropfen der Mischung mit Ferrocyankalium keine Blaufärbung mehr giebt. 20 ccm der Eisenlösung verbrauchen 7,7—8 ccm der Bichromatlösung.

Ausführung. Das citronensaure Ammoniak wird in Wasser gelöst. Die auf 20 ccm concentrirte Lösung wird mit 20—30 ccm (genau gemessen) der Bichromatlösung und 20—25 ccm conc. Schwefelsäure vorsichtig unter Umrühren versetzt und darauf etwa $^1/_4$ Stunde erhitzt (aber nicht bis zum Sieden). Die Oxydation ist dann zu Ende, die Kohlensäureentwickelung hat aufgehört. Man verdünnt jetzt mit 50 ccm Wasser, setzt (gemessene Mengen) Ferroammonsulfatlösung im Ueberschuss hinzu, bis die braune Farbe in eine grüne übergegangen ist, und titrirt nun mit Bichromat zurück.

Die Berechnung ist einfach.

Untersuchung des Secretes der Talgdrüsen und der diesem ähnlich zusammengesetzten Secrete.

676. Hierher gehören ausser dem Hauttalg[1]) die Vernix caseosa[2]), der Wollschweiss der Schafe[3]), das Secret der Bürzeldrüse der

[1]) Hoppe-Seyler, Physiol. Chem. S. 760.
[2]) Liebreich, Arch. f. path. Anat. **121**. 383. (1890.)
Ruppel, Zeitschr. f. physiol. Chem. **21**. 122. (1896.)
[3]) Hartmann, Dissertat. Göttingen 1868.
E. Schulze, Ber. d. d. chem. Ges. **5**. 1075. (1872.) **6**. 251. (1873.)
Liebreich, a. a. O.

Vögel[1]), das Smegma[2]), das Ohrenschmalz[3]), der Inhalt der Balggeschwülste und Dermoïdcysten[4]).

677. **Bestandtheile.** Diese Massen haben eine salbenförmige oder dünnbreiige Consistenz und enthalten mehr oder weniger Epithelzellen, manche auch Fetttröpfchen und Cholesterinkrystalle beigemengt.

Alle zeichnen sich durch einen reichen Fettgehalt aus u. z. enthalten manche z. B. die Vernix caseosa neben dem gewöhnlichen Fett noch Cholesterin- und Isocholesterinfett (§ 235). Der Wollschweiss der Schafe enthält ausschliesslich diese beiden letzteren Fette. Das Fett der Bürzeldrüse besteht zum grossen Theil (oder ganz?) aus Cetylalkoholestern der höheren Fettsäuren; auch in Dermoïdcysten sind dieselben gefunden worden (§ 84). Im Secret der Blattlaus wurde Psyllaalkohol in Verbindung mit Psyllasäure nachgewiesen (§ 85). Was die Säurecomponenten der Fette betrifft, so handelt es sich in der Hauptsache um höhere Fettsäuren. Im Dermoïdcystenfett sind nachgewiesen Palmitinsäure, Stearinsäure, Oelsäure, Myristinsäure, Arachinsäure neben wenig Ameisensäure und Buttersäure (v. Zeynek). Ausser dem Fett kommen in diesen Secreten Lecithin, Cholesterin, Proteïnstoffe und anorganische Salze vor. Unter den Proteïnstoffen fand sich im Hauttalg und in der Bürzeldrüse ein proteïd- (caseïn-) artiger Stoff (de Jonge). Zucker ist nicht vorhanden. In Atherombälgen sind auch Leucin und Tyrosin enthalten.

678. Die **Untersuchung** dieser Massen geschieht wie die seröser Flüssigkeiten (§ 536 ff.); nur in Betreff der Proteïnstoffe und der unverseifbaren ätherlöslichen Stoffe ist noch Einiges zu bemerken.

Proteïnstoffe. Da alle diese Secrete keine Flüssigkeiten darstellen, so sind die Proteïnstoffe, soweit sie löslich sind, zunächst in wässrige Lösung zu bringen. Das geschieht, indem man die salbenförmigen oder breiigen Massen mit Wasser zerreibt oder schüttelt und dann filtrirt. Die Filtrate werden nach § 543 untersucht. Proteïnstoffe.

In der auf diese Weise aus dem Secret der Bürzeldrüse und aus dem Hauttalg erhaltenen wässerigen Lösung rief Kohlensäure einen flockigen Niederschlag hervor, der in 7 proc. Kochsalzlösung unlöslich, in Natriumcarbonat und verd. Salzsäure löslich war. Im Filtrat von diesem Niederschlag entstand durch Kochen eine weitere Fällung.

Unverseifbare ätherlösliche Stoffe. Sie werden isolirt, indem man den nach § 556 gewonnenen Aetherextract nach S. 87 verseift, die verseifte Masse mit Aether extrahirt und den Aetherauszug verdunstet, und können aus Cholesterin, Isocholesterin, anderen noch unbekannten cholesterinartigen Alkoholen und Cetylalkohol bestehen. Man löst den Aether- Unverseifbare ätherlösliche Stoffe.

---

[1]) de Jonge, Zeitschr. f. physiol. Chem. **3**. 225. (1879.)
[2]) C. G. Lehmann, L. Gmelin, Handb. d. Chem. **8**. 295.
[3]) Petrequin, Compt. rend. **68**. 940. (1869.) **69**. 987. (1869.)
[4]) Sotnitschewsky, Zeitschr. f. physiol. Chem. **4**. 345. (1880.) v. Zeynek, Ebendas. **23**. 40. (1897.)

rückstand in heissem absolutem Alkohol. Beim Erkalten scheidet sich Cholesterin, Isocholesterin und Cetylalkohol aus, während cholesterinartige Alkohole in Lösung bleiben. Zur Trennung von Cholesterin und Cetylalkohol (Dermoïdcysten, Secret der Bürzeldrüse) benutzt man fractionirte Krystallisation aus Alkohol, zur Trennung von Cholesterin und Isocholesterin (Wollschweiss, Vernix caseosa) verfährt man nach § 233. Cholesterin wird nach § 230, Isocholesterin nach § 233, Cetylalkohol nach § 84 identificirt.

Cholesterin, Isocholesterin, Cetylalkohol.

Ueber die noch wenig bekannten cholesterinartigen Alkohole, welche in den Dermoïdcysten gefunden wurden, siehe bei v. Zeynek (a. a. O.).

In Betreff der Untersuchung des Wollschweisses sei ausser auf die bereits erwähnten noch auf die Arbeiten von Darmstätter und Lifschütz[1]) verwiesen.

Untersuchung des Spermas.

Das menschliche Sperma, ein Secret von dickflüssiger Beschaffenheit, weisslicher bis gelblicher Farbe und milchigem Aussehen besteht aus der sogen. Zwischenzellenflüssigkeit und den Spermatozoën. Es reagirt alkalisch.

679. **Bestandtheile.** Es enthält etwa 10 pCt. Trockenrückstand, darunter ätherlösliche Substanzen, anorganische Salze und Proteïnstoffe u. z. sowohl durch Essigsäure schon in der Kälte als auch erst beim Erhitzen nach Ansäuern mit Essigsäure fällbare, ferner Propeptone. Unter den durch Essigsäure in der Kälte fällbaren Proteïnstoffen findet sich ein Nucleoproteïd, welches den Spermatozoën angehört, und vielleicht auch Mucin (Slowtzoff[2]). Im Sperma von Fischen wurden Verbindungen von Nucleïnsäure mit Protaminen (§ 330) bezw. mit Histonen (§ 321) aufgefunden. Im Sperma von Eber und Stier fehlen zu den Protaminen oder Histonen gehörige Substanzen; über das Sperma anderer Säugethiere und des Menschen liegen nach dieser Richtung noch keine Angaben vor.

Während das menschliche Sperma noch nicht genauer untersucht worden ist, sind eingehende Arbeiten über das Sperma von Fischen, besonders über das Lachssperma ausgeführt worden (Miescher[3]). Auf dieses beziehen sich die folgenden Angaben.

Untersuchung des Lachsspermas.

680. **Trennung in Zwischenzellenflüssigkeit und Spermatozoën.** Dieselbe geschieht durch Centrifugiren des ganz frischen Spermas, noch vollständiger, wenn das ganz frische Secret vorher mit einer Glaubersalzlösung (1, 02 spec. Gew.) vermischt wird.

681. **Trennung der Spermatozoën in Köpfe und Schwänze.** Dieselbe gelingt durch wiederholtes Centrifugiren der Spermatozoën mit immer er-

---

[1]) Ber. d. d. chem. Ges. **29**. (1896.) u. **31**. (1898.) mehrere Arbeiten.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **35**. 358. (1902.)

[3]) Verhandl. d. naturh. Gesellsch. in Basel. **6**. Heft 1. S. 138. (1874.) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **37**. 100. (1896.)

neutem Wasser, bis die centrifugirte Flüssigkeit ganz klar ist. Die Köpfe bleiben als Sediment zurück, während die Schwänze unter Quellung und Trübung der Flüssigkeit in diese übergehen.

682. **Untersuchung.** 1. der Zwischenzellenflüssigkeit. Sie ist völlig klar, wasserhell, alkalisch und enthält anorganische Salze (Natrium, Kalium, Salzsäure, Schwefelsäure, Kohlensäure), Spuren von Eiweiss (ganz geringe Abscheidung auf Zusatz von Ferrocyankalium + Essigsäure), kein Pepton.

2. der die Schwänze enthaltenden Flüssigkeit. Durch Zufügen von überschüssigem Ammonacetat und einigen Tropfen Salzsäure entsteht ein Niederschlag, welcher durch Behandeln mit Alkohol und Aether in einen in diesen Flüssigkeiten löslichen und einen darin unlöslichen Theil getrennt werden kann. Der erstere besteht aus Cholesterin, Lecithin, Fett und wird nach § 642 untersucht, der letztere aus Proteïnsubstanz.

3. der Köpfe. Dieselben bestehen zum grössten Theil aus nucleïnsaurem Salmin. Man extrahirt sie mit Alkohol und Aether (wobei äusserst wenig in Lösung geht, darunter kein Lecithin) und darauf bei niedriger Temperatur mit 0,25—0,5 proc. Salzsäure. Dabei wird Salmin gelöst, während Nucleïnsäure ungelöst bleibt. Aus dem Filtrat lässt sich Salmin mittelst Platinchlorid ausfällen.

Ueber die Darstellung der Protamine aus Sperma vergl. § 330 und über die Darstellung der Nucleïnsäuren aus Sperma § 377.

6. Untersuchung des Darminhaltes.

Untersuchung des Dünndarminhaltes.

683. **Bestandtheile.** Der Chymus wie er in einem Fall einer Darmfistel beim Menschen aus dem untersten Ende des Dünndarms nach gemischter Ernährung ausfloss, stellte eine dünnbreiige, gelb bis gelbbraun gefärbte, fast geruchlose Masse von saurer Reaction dar. Es fanden sich in ihm in der Hitze gerinnendes Eiweiss, Pepton, Mucin, Stärke, Dextrin, Zucker, Milchsäure, flüchtige Fettsäuren, besonders Essigsäure, Gallensäuren, Bilirubin, aber kein Leucin und Tyrosin und keine Endproducte der Fäulniss oder höchstens Spuren (Nencki[1]).

Im Dünndarminhalt mit Fleisch gefütterter Hunde fanden Kutscher und Seemann[2]) weder Propeptone noch Peptone in nennenswerther Menge. Dagegen in Uebereinstimmung mit älteren Angaben Aminosäuren (Leucin und Tyrosin) und ferner Diaminosäuren, unter denen Lysin und Arginin isolirt wurden. Die Reaction ist neutral oder sauer, niemals alkalisch (J. Munk[3]).

---

1) Macfadyen, Nencki u. Sieber, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **28.** 311. (1891.)

2) Zeitschr. f. physiol. Chem. **34.** 528. (1902.)

3) Centralbl. f. Physiol. **16.** 33. (1903.)

684. Die **Untersuchung** des Dünndarminhaltes geschieht wie die der Fäces (§ 687ff.). Ueber den Nachweis der Diaminosäuren siehe bei Kutscher und Seemann sowie auch § 167.

Untersuchung der Fäces.

Allgemeines.

Die Fäces sind ebenso sehr ein Object für die mikroskopische Untersuchung wie für die chemische. Im Folgenden wird nur von der letzteren die Rede sein.

685. **Bestandtheile.** Menge und Zusammensetzung der menschlichen Fäces sind vor Allem abhängig von der Art der Nahrung. Bei reiner Fleischkost ist ihre Quantität am geringsten und kaum grösser als beim Hungern, bei vegetabilischer am grössten. Die Bestandtheile lassen sich in folgende vier Gruppen eintheilen:

Reste der Nahrung.

1. Reste der Nahrung (z. Th. unverdauliche, z. Th. unverdaute): Keratinhaltige Substanzen, Reste von elastischem Gewebe und von Bindegewebe, Caseïn und Paranucleïn (nach reichlicher Milchzufuhr), Hämatin, Cellulose, Amylum, Fett, Kalkseifen (aus Fett stammend), Harze, Chlorophyllan, anorganische Stoffe (Calcium, Magnesium, Kalium, Natrium, Eisen, gebunden an Phosphorsäure, Schwefelsäure, Kohlensäure) u. z. überwiegen im Allgemeinen unter den Basen die alkalischen Erden und unter den Säuren Phosphorsäure, während Schwefelsäure und Salzsäure in geringer Menge sich finden. Sand ist meist ziemlich reichlich vorhanden; dazu unter pathologischen Verhältnissen: lösliche Eiweissstoffe, Leucin und Tyrosin (aus dem Eiweiss stammend), Zucker, Lecithin.

Reste der Verdauungssäfte.

2. Reste der Verdauungssäfte: Mucine, Nucleoproteïde[1]), Fermente (Diastase, Invertin) und manche der unter 1 genannten Stoffe. Dazu unter pathologischen Verhältnissen: Glyko- und Taurocholsäure.

Producte bacterieller Einwirkung.

3. Producte bacterieller Einwirkung. Wasserstoff, Ammoniak, Schwefelwasserstoff, Sumpfgas, flüchtige Fettsäuren, Methylmercaptan, Nucleïnbasen[1]), Hydro-p-cumarsäure, p-Oxy-phenylessigsäure, Phenole, Skatol, Indol, Cholsäure, Koprosterin, Urobilin und dazu unter pathologischen Verhältnissen Milchsäure, Cadaverin und Putrescin (sehr häufig bei Cystinurie).

Organisirte Elemente.

4. Organisirte Elemente: Epithelzellen, Mikroorganismen u. s. w.; unter pathologischen Verhältnissen auch Eiterkörperchen und Blutkörperchen. Unveränderte Blutkörperchen finden sich nur bei Blutungen in den Darm, u. z. (abgesehen von den Fällen völliger Functionsstörung des Darms, wie bei Cholera, oder von ausserordentlich reichlichen Blutungen) nur bei solchen Blutungen, welche in den untersten Theil des Dickdarms erfolgen.

---

[1]) Weintraud, Centralbl. f. inn. Med. **16**. 433. (1895.), Verhandl. d. 14. Congr. f. inn. Med. S. 190. (1896.)

Unter normalen Verhältnissen erfährt das Blut im Darm eine Zersetzung, und der Blutfarbstoff erscheint als Hämatin in den Fäces.

686. **Allgemeine Eigenschaften.** Die Consistenz ist besonders von dem Wassergehalt abhängig. Die normalen menschlichen Fäces sind geformt oder breiig.

Die Farbe ist bei gemischter Nahrung bräunlich, bei reiner Fleischkost dunkler (bis schwarz), bei vegetabilischer heller, bei Milchkost gelblich.

Die Reaction ist bei gemischter Nahrung gegen Lacmus neutral oder schwach alkalisch oder schwach sauer. Eine stärker saure Reaction ist meist durch lebhaftere Gährung von Kohlehydraten, eine stärker alkalische durch vermehrte Eiweissfäulniss im Darm bedingt. Zur Prüfung der Reaction zerreibt man die Fäces mit etwas Wasser.

Der Geruch ist der bekannte, als fäcalartig bezeichnete.

Nachweis von anorganischen Salzen in den Fäces.

687. Eine directe Veraschung ist aus den § 541 entwickelten Gründen unzulässig. Um die Fehlerquellen, zu denen in diesem Falle noch der Gehalt an eisenhaltigem Hämatin und an Kieselsäure hinzukommt, nach Möglichkeit zu vermeiden, verrührt man die Fäces mit einem grossen Ueberschuss von Alkohol, filtrirt und zieht den Rückstand zunächst mit verdünnter Essigsäure und darauf mit verdünnter Salzsäure aus. Es werden auf diese Weise eine alkoholische, eine essigsaure und eine salzsaure Lösung erhalten.

1. Die alkoholische und essigsaure Lösung: Man vereinigt sie, dampft ein*), verascht nach § 426 und untersucht den wässerigen und den salzsauren Auszug nach § 431 und § 432. (Etwa gefundenes Eisen zeigt Hämatin an, welches den Fäces durch Alkohol entzogen worden ist.)

2. Die salzsaure Lösung. Man verdampft und verascht ebenfalls, nimmt die Asche mit Salzsäure auf und untersucht die Lösung nach § 432 auf Phosphorsäure und auf Eisen. An dieser Stelle gefundenes Eisen war in den Fäces als Phosphat oder als Oxyd vorhanden.

Nachweis von Proteïnstoffen in den Fäces.

688. Man zerreibt die Fäces mit essigsäurehaltigem Wasser, filtrirt, zerreibt den Rückstand mit ganz verdünnter Natronlauge und filtrirt abermals. Das erste Filtrat wird nach § 510 auf Eiweiss und nach § 517 oder § 518 auf Propeptone (Peptone) untersucht, das zweite Filtrat nach § 543, 1 auf phosphorhaltige Proteïde und Glykoproteïde.

*) Da Taurin (Taurocholsäure) und Sulfat sich neben einander in diesem Rückstand befinden können, eine Trennung beider aber nicht ausführbar erscheint, so ist es nöthig, die Prüfung auf Sulfat vor der Veraschung vorzunehmen und zu dem Zweck eine Probe des Rückstandes in verdünnter Salzsäure zu lösen und das klare Filtrat mit Chlorbarium zu versetzen.

Nachweis der Nucleïnbasen in den Fäces[1]).

689. Zum Nachweis der Nucleïnbasen (u. z. der freien sowie der durch Spaltung der Nucleoproteïde erhaltenen) erhitzt man die Tagesmenge Fäces mit 2 Litern Wasser und 15 ccm conc. Schwefelsäure 2—3 Stunden, filtrirt, macht mit Natronlauge alkalisch, mit Essigsäure stark sauer, kocht noch einmal auf und filtrirt. In der heissen Lösung entsteht auf Zusatz von Kupfersulfat und Natriumbisulfit ein Niederschlag, welcher die Kupferoxydulverbindungen der Nucleïnbasen (u. z. aller vier § 124) enthält.

Um die einzelnen Basen zu isoliren und nachzuweisen (event. quantitativ zu bestimmen), behandelt man eine grössere Menge Fäces, wie es weiterhin a. a. O. beschrieben. Die Isolirung kann auch im Wesentlichen nach dem in § 734 beschriebenen Verfahren, das die Erfahrungen von Krüger und Schittenhelm benutzt, geschehen.

Nachweis von aromatischen Substanzen, Koprosterin, Fett, Fettsäuren, Kohlehydraten in den Fäces.

690. Die mit Wasser zum dünnen Brei verriebenen Fäces werden destillirt, bis etwa ein Drittel des Volumens übergegangen ist. Man erhält so ein Destillat (A) und einen Rückstand (B).

A. **Destillat*).** Man übersättigt mit Natriumcarbonat und destillirt wieder etwa ein Drittel der Flüssigkeit über.

1. Rückstand. Man säuert mit Schwefelsäure an, destillirt, vereinigt das Destillat mit B 1 b α und untersucht nach S. 62, Abs. 2, auf flüchtige Fettsäuren. *(flüchtige Fettsäuren.)*

2. Destillat. Man übersättigt mit Natronlauge und destillirt wieder den dritten Theil über.

a) Rückstand. Er wird nach Uebersättigen mit Schwefelsäure destillirt und das Destillat nach § 189 auf Phenole geprüft. *(Phenole.)*

b) Destillat. Es wird nach § 210 und § 211 auf Indol und Skatol geprüft. *(Indol und Skatol.)*

B. **Rückstand.** Man dampft etwas ein, säuert nach dem Erkalten mit Schwefelsäure stark an, extrahirt nacheinander mit Alkohol und mit Aether und vereinigt die abfiltrirten Auszüge. Man erhält so alkoholisch-ätherische Auszüge (1) und einen Rückstand (2).

1. Alkoholisch-ätherische Auszüge. Man übersättigt mit Natriumcarbonat, destillirt Alkohol und Aether ab, zertheilt den Rückstand in viel Wasser, schüttelt mit Aether aus und trennt die ätherische (a) und wässerige (b) Lösung im Scheidetrichter.

a) Aetherische Lösung. Man verdunstet den Aether, verseift den Rückstand nach S. 87, 1 oder 2, zieht die Seifenlösung mit Aether aus und untersucht den Aetherrückstand nach § 231 auf Koprosterin (etwa *(Koprosterin.)*

---

*) Dieses Destillat, welches Phenole, Indol, Skatol und flüchtige Fettsäuren enthalten kann, lässt sich auch nach § 218 A untersuchen.

[1]) Krüger u. Schittenhelm, Zeitschr. f. physiol. Chem. **35**. 153. (1902).

gleichzeitig vorhandenes Cholesterin lässt sich durch seine Unlöslichkeit in kaltem Alkohol vom Koprosterin abtrennen). Darauf wird die Seifenlösung mit Schwefelsäure stark angesäuert und zur Untersuchung auf höhere und niedere Fettsäuren weiter nach § 89, Schluss, behandelt. Die Fettsäuren stammen aus den Fetten. Cholesterin. Fette.

b) Wässrige Lösung. Nach Verdunsten des Aetherrestes säuert man mit Schwefelsäure an und destillirt die Hälfte der Flüssigkeit ab.

α) Destillat. Es kann noch flüchtige Fettsäuren enthalten und wird mit dem Destillat von A 1 vereinigt.

β) Kolbeninhalt. Derselbe wird nach dem Erkalten filtrirt.

$\alpha\alpha$) Filterrückstand. Man löst ihn in Aether und untersucht die klare ätherische Lösung nach § 72 auf Palmitinsäure, Stearinsäure und Oelsäure. Ueber die Trennung von beigemengter Cholsäure siehe S. 64 *Anm. höhere Fettsäuren.

$\beta\beta$) Filtrat. Ein kleiner Theil wird mit der Trommer'schen Reaction (§ 92, 4) auf Zucker geprüft. Die Hauptmenge schüttelt man mit Aether aus, verdunstet die abgegossene Aetherlösung und prüft die wässerige Lösung des Rückstandes auf p-Oxyphenylpropionsäure und Hydro-p-cumarsäure (Rothfärbung mit Millon's Reagens §§ 201 und 202). Zucker. aromatische Oxysäuren.

2. Rückstand. Er wird mit Wasser verdünnt, längere Zeit gekocht und filtrirt.

a) Filtrat. Man prüft es auf Amylum und Dextrine: Amylum färbt sich mit Jod blau, Erythrodextrin roth (§ 101). Beide werden durch Kochen mit verdünnter Salzsäure in Traubenzucker umgewandelt, der mit der Trommer'sche Probe (§ 92, 4) nachgewiesen werden kann. Amylum, Dextrine.

b) Filterrückstand. Man erwärmt ihn mit verdünnter Natronlauge, filtrirt nach Wasserzusatz durch Asbest, trocknet und zerreibt ihn (incl. Asbest) mit conc. Schwefelsäure in der Reibschale. Die Lösung wird in die 20 fache Menge siedenden Wassers gegossen, noch eine halbe Stunde am Rückflusskühler gekocht und dann mit der Trommer'schen Reaction geprüft. Ein positiver Ausfall zeigt Cellulose an. Cellulose.

Nachweis von Gallensäuren in den Fäces.

691. **Cholsäure.** Man extrahirt die Fäces mit Alkohol, filtrirt, dampft unter Zusatz von etwas Essigsäure auf dem Wasserbade zum Syrup ein und zieht den Rückstand mit kaltem Wasser aus. Das Ungelöste wird mit Barytwasser übergossen und nach Zufügen von etwas Wasser erwärmt. Man leitet jetzt Kohlensäure ein, erhitzt zum Sieden, filtrirt heiss, erschöpft den Rückstand durch Auskochen mit heissem Wasser und dampft die vereinigten heiss filtrirten Auszüge auf ein kleines Volumen ein. Naeh dem Erkalten wird etwas Aether und dann Salzsäure hinzugefügt, gut umgerührt und eine Zeit lang stehen gelassen. Man filtrirt die ausgeschiedene

Cholsäure ab, wäscht mit Wasser, löst in Alkohol, dampft die alkoholische, nöthigenfalls mit Thierkohle entfärbte Lösung auf ein kleineres Volumen ein und lässt zur Krystallisation stehen. Die ausgeschiedenen Krystalle werden nach § 236 auf Cholsäure geprüft.

692. **Gepaarte Gallensäuren und Cholsäure.** Man extrahirt die Fäces mit Alkohol, filtrirt, entfernt den grössten Theil des Alkohols durch Eindampfen, macht mit Salzsäure sauer, dann mit Barytwasser stark alkalisch, leitet Kohlensäure ein, erhitzt zum Kochen, filtrirt heiss und kocht den Rückstand noch mehrmals mit Wasser aus. Die vereinigten Filtrate werden auf ein kleines Volumen eingedampft: Beim Erkalten scheidet sich cholsaurer Baryt ab, während glykocholsaurer und taurocholsaurer Baryt in Lösung bleiben. Den cholsauren Baryt führt man durch Behandeln mit Salzsäure (siehe oben) in Cholsäure über. Zur Trennung von Glykocholsäure und Taurocholsäure kann ihr verschiedenes Verhalten gegen Bleiacetat benutzt werden (S. 272 unten), über ihren Nachweis siehe § 246 und § 247.

Nachweis von Farbstoffen in den Fäces.

693. **Urobilin.** 1. A. Schmidt's Probe[1]). Man verreibt frische Fäces in einer kleinen Porzellanschale mit wässriger gesättigter Sublimatlösung, bringt die Masse in ein Uhrschälchen, lässt bedeckt stehen und prüft nach 24 Stunden (oder auch früher) makroskopisch und mikroskopisch. Die urobilinhaltigen Theile der Fäces sind rosa- bis tiefrosenroth, die bilirubinhaltigen dagegen grün gefärbt.

2. Man extrahirt die Fäces mit schwefelsäurehaltigem Alkohol, engt das Filtrat bei 45—50° auf ein kleines Volumen ein, mischt mit dem gleichen Volumen Wasser und schüttelt mit Chloroform aus. Die spectroskopische Prüfung der Chloroformlösung und die grüne Fluorescenz nach Zusatz von ein wenig Chlorzink und überschüssigem Ammoniak entscheidet über die Anwesenheit von Urobilin (S. 293). Hämatin, Chlorophyllan und andere Farbstoffe können diesen Nachweis sehr stören.

3. Méhu's Probe[2]). Man sättigt den wässrigen und mit Schwefelsäure (2 g auf 1000 ccm) versetzten Auszug der Fäces mit Ammonsulfat, filtrirt, wäscht mit gesättigter Ammonsulfatlösung aus, extrahirt den trocknen Niederschlag mit schwefelsäurehaltigem Alkohol und prüft die alkoholische Lösung spectroskopisch und auf ihr Verhalten gegen Chlorzink und Ammoniak (siehe 2).

694. **Bilirubin.** 1. A. Schmidt's Probe siehe § 693.

2. Huppert's Probe. Man verreibt Fäces mit Wasser und verfährt, wie § 520, 4 angegeben.

695. **Biliverdin.** Anwesenheit von Biliverdin giebt sich durch die grüne Färbung der Fäces und durch Grünfärbung des zur Extraction benutzten Alkohols zu erkennen.

---

[1]) Verhandl. d. 13. Congr. f. inn. Med. S. 320.
Schorlemmer, Münch. med. Wochenschr. 1900. S. 458.

[2]) Journ. de pharm. et de chim. Août. 1878.

696. **Hämatin.** Man zieht die mit etwas Schwefelsäure versetzten Fäces mit Aether oder Alkohol aus und prüft spectroskopisch (S. 278). Auf Zusatz von Natronlauge und Schwefelammonium entsteht das Spectrum des Hämochromogens (S. 276). Auch der Nachweis reichlicher Mengen von Eisen in dem alkoholischen Auszug der Fäces nach § 57 ist für die Erkennung des Hämatins zu verwenden.

697. **Chlorophyllan.** Man säuert die Fäces an, extrahirt mit Aether und schüttelt die genügend concentrirte ätherische Lösung mit dem gleichen Volumen conc. Salzsäure: Blaufärbung der Salzsäurelösung (durch Bildung von Chlorophyllansäure) und Beobachtung eines Streifens zwischen B und C bei der spectroskopischen Prüfung zeigen Chlorophyllan an.

Nachweis verschiedener Bestandtheile in den Fäces.

698. **Milchsäure.** Man fällt die mit Wasser verrührten Fäces mit Barytwasser, befreit das Filtrat mittelst Kohlensäure von überschüssigem Baryt, filtrirt, dampft ein und verfährt weiter wie S. 66 angegeben.

699. **Leucin** und **Tyrosin.** Der Nachweis geschieht nach § 557.

700. **Lecithin.** Man extrahirt die Fäces mit Alkohol, dampft das Filtrat bei niedriger Temperatur (unterhalb 50°) ein, zieht den Rückstand mit Aether aus und prüft das Aetherextract nach § 56 auf Phosphor.

701. **Cadaverin** und **Putrescin.** Man verfährt nach den Angaben von § 169.

702. **Ammoniak** wird nach § 52, **Schwefelwasserstoff** nach § 48 nachgewiesen.

Herstellung lufttrockner Fäces für quantitative Bestimmungen.

703. **Vorbemerkung.** Die für quantitative Bestimmungen nothwendige gleichmässige Mischung wird am Besten durch Trocknen und Pulverisiren erreicht. Um Zersetzungen und Verlust an Ammoniak zu vermeiden, ist es nöthig alkalisch reagirende Fäces vor dem Eintrocknen mit ein wenig Schwefelsäure zu verrühren. Dieser Zusatz bedingt zwar offenbar auch eine kleine Ungenauigkeit. Dieselbe lässt sich aber wohl nicht umgehen*).

704. **Ausführung nach Poda**[1]**).** Die frischen Fäces (eine Tagesmenge) werden in einer Porzellanschale, deren Gewicht incl. Glasstab bekannt ist, abgewogen und auf schwach siedendem und durch eine kleine Flamme erhitztem Wasserbade eingedampft. Wenn die Consistenz zähflüssig geworden ist (nach 4—6 Stunden), wird das an den Wandungen haftende mit einem Messer zusammengekratzt und das Ganze mit etwa 50 ccm absol. Alkohol

---

*) Vielleicht dadurch, dass man das Eintrocknen im Vacuum bei sehr mässiger Temperatur vornimmt.

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **25**. 355. (1898.)

zusammengerührt. Nach weiterem etwa einstündigem Erwärmen wird aufs Neue Alkohol zugefügt, wieder verdunstet und mit dem Zusatz von Alkohol und dem Erwärmen fortgefahren, bis die Fäces nach dem Abkühlen pulverisirbar geworden sind. Jetzt stellt man das Gewicht fest, zerreibt zu einem feinen Pulver und bringt dasselbe in ein verschliessbares Gefäss. Es dient für die folgenden Bestimmungen.

Bestimmung des Trockenrückstandes.

705. Man wägt 2—3 g des nach § 704 erhaltenen Pulvers ab und trocknet bei 100° bis zum constanten Gewicht. Zum Abwägen, Trocknen und Wägen benutzt man am Besten einen Uhrglasapparat (§ 9).

Bestimmung der Gesammtmenge an Stickstoff und einzelnen Aschebestandtheilen in den Fäces.

706. Man bestimmt den Gesammtstickstoff nach Kjeldahl (§ 453b) und die einzelnen Aschebestandtheile nach §§ 433 ff. Für die Bestimmung des Gesammtphosphors nach A. Neumann (§ 448) benutzt man ca. 1 g, für den Gesammtschwefel (§ 444 oder § 445) 2 g, für das Gesammteisen nach A. Neumann (§ 436) 3—4 g des nach § 704 hergestellten Pulvers.

Bestimmung des Fettes, des Fettes + der Fettsäuren in den Fäces.

707. a) **Fett.** Man wägt 5—6 g des nach § 704 erhaltenen Pulvers ab, bringt sie in eine Papierhülse des Soxhlet'schen Apparates und extrahirt völlig mit Aether. Der Aether wird verdunstet, der Rückstand wieder mit Aether aufgenommen, die ätherische Lösung (zur Entfernung von freien Fettsäuren) mit einer verdünnten Sodalösung geschüttelt und dann weiter nach § 560 B 3 b behandelt. Nur die Befreiung des Cholesterins von beigemengten Seifen kann nicht in der angegebenen Weise erreicht werden, da das Cholesterin der Fäces, das Koprosterin, in kaltem Alkohol auch leicht löslich ist. Es empfiehlt sich statt dessen, den Rückstand nochmals mit wenig wasserfreiem Aether aufzunehmen, wobei die Seifen wenigstens zum grössten Theil ungelöst bleiben werden.

b) **Fett + Fettsäuren.** Man verreibt die abgewogene Menge des nach § 704 gewonnenen Pulvers mit ein wenig Schwefelsäure oder schwefelsäurehaltigem Alkohol, trocknet und verfährt nun genau wie unter a angegeben, nur mit dem Unterschied, dass das Ausschütteln der ätherischen Lösung mit Sodalösung unterbleibt.

Bestimmung von Amylum (+ Dextrin) in den Fäces.

708. Princip. Stärke und Dextrin werden durch Kochen mit verdünnter Säure in Traubenzucker übergeführt und dieser titrimetrisch bestimmt.

Bei Anwesenheit von Mucin giebt das Verfahren keine genauen Werthe, da Mucin bei der hydrolytischen Spaltung auch ein reducirendes Kohlehydrat liefert. Durch

mechanische Entfernung grösserer Schleimflocken vor dem Eintrocknen der Fäces lässt sich diese Fehlerquelle wohl verkleinern, aber nicht ganz beseitigen. Cellulose bedingt keine Fehler; etwa vorhandener Zucker wird mitbestimmt.

Ausführung. Man benutzt nach Strassburger[1]) eine Combination der Methoden von Liebermann[2]) und von Pflüger-Volhard (§ 555) und verfährt in folgender Weise: Man trocknet 2—3 g des nach § 704 erhaltenen lufttrockenen Pulvers bei 100°, erhitzt es in einem Kolben mit 100 ccm 2 proc. Salzsäure $1^1/_2$ Stunden am Rückflusskühler (L. Liebermann), neutralisirt nach dem Erkalten nahezu mit Natronlauge, filtrirt durch ein Asbestfilter unter Druck, wäscht mit Wasser nach und bringt das Filtrat auf 200 ccm. Von der event. noch einmal filtrirten Flüssigkeit werden 50 ccm in einem etwa 300 ccm fassenden Becherglase mit 30 ccm Allihn'scher Lauge, 30 ccm Kupfersulfatlösung und 35 ccm Wasser zusammengebracht und weiter genau nach § 555 behandelt. Durch Multiplication der gefundenen Menge Traubenzucker mit 0,94 erfährt man die Menge Stärke.

Darmconcremente, Darmsteine.

709. Sowohl bei Menschen als bei Pflanzenfressern finden sich in den Fäces häufig Incrustationen von Speiseresten mit anorganischen Salzen oder Concretionen von Haaren, harzigen Massen und Fasern genossener Stengel und Blätter. Ausserdem kommen auch Steine vor: Gallensteine (§ 652), Pancreassteine (§ 634) sowie im Darm selbst entstandene Steine. Letztere und die Incrustationen bestehen fast ausschliesslich aus phosphorsaurer Ammoniak-Magnesia ($NH_4MgPO_4 + 6H_2O$) mit etwas Calciumphosphat; an menschlichen Darmsteinen sieht man zuweilen*) grosse, wohl ausgebildete Krystalle des ersteren Salzes. Die Darmsteine des Pferdes, welche ein Gewicht von über 5 kg erreichen können, enthalten nur Spuren von phosphorsaurem Kalk.

Die **Untersuchung** der Darmsteine und Incrustationen wird wie die der Harnsteine ausgeführt (§ 533 ff.). Die Prüfung auf Harnsäure, Cystin, Xanthin u. s. w. fällt fort.

Im Darminhalt von Leichen sind zuweilen Abscheidungen von blauen Vivianitkörnchen beobachtet worden (§ 41).

Die Bezoare, wahrscheinlich Darmsteine von Antilopa Dorcas und Capra Aegagrus, sind olivenfarbig, concentrisch geschichtet und auf dem Bruch wachsglänzend, schmelzen beim Erhitzen und bestehen fast ganz aus Lithofellinsäure (§ 245) neben Spuren von grünem Farbstoff, wahrscheinlich Gallenfarbstoff, und etwas Schleim. Andere Bezoare sind dunkler gefärbt, schmelzen beim Erhitzen nicht und enthalten wohl Ellagsäure $C_{14}H_6O_8$. Bezoare.

---

*) Ein schöner Fall von Virchow beschrieben und abgebildet. Arch. f. pathol. Anat. **20**. 403. (1860.)

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. **84**. 173. (1901).

[2]) Maly's Jahresschr. 1886. S. 55.

Untersuchung des Meconiums.

710. Das Meconium stellt eine pechähnliche Masse dar und enthält Schleim, Epithel der Darmschleimhaut, Nucleoproteïde, Gallensäuren, Gallenfarbstoffe, Cholesterin, Fett, anorganische Salze, aber keinerlei Fäulnissproducte.

Dampft man den alkoholischen Auszug mit Natriumcarbonat zur Trockne und zieht den Rückstand zunächst mit Aether und dann mit Alkohol aus, so erhält man beim Verdunsten des Aetherauszugs Cholesterin in strahligen Krystallen (§ 230), während der Rückstand des alkoholischen Auszugs die Fluorescenz- und die Pettenkofer'sche Reaction der Gallensäuren (S. 265, 2 u. 3) giebt.

Bei Extraction des Meconiums mit Chloroform geht Bilirubin in dieses über. Im Uebrigen geschieht die Untersuchung wie die der Fäces.

6. Untersuchung der Stützgewebe.

Untersuchung der Knochen, Zahnsubstanzen und Verkalkungen.

711. **Bestandtheile.** Die Grundsubstanz des Knochengewebes und des Dentins der Zähne, welche von den die Zellen enthaltenden und miteinander verbundenen Knochenhöhlen, bezw. von den Zahncanälchen durchsetzt wird, ist zusammengesetzt aus Collagen (mit Beimengungen von Osseomukoïd) und anorganischen Salzen. Diese, die sog. Knochenerde, bestehen zum grössten Theil aus Calcium und Phosphorsäure, in geringerer Menge findet sich Magnesium und Kohlensäure, in noch geringerer Natrium und Kalium und in Spuren Chlor- und Fluorwasserstoff.

Ausserdem finden sich in Wasser und in Alkohol und Aether lösliche Substanzen in geringer Menge, die vermuthlich den (aus der Grundsubstanz nicht zu entfernenden) Zellen angehören.

Der Cement der Zähne ist echtes Knochengewebe, der Zahnschmelz ist frei von organischer Substanz.

Frische, gut gereinigte Knochen scheinen nie Eisen zu enthalten; dasselbe findet sich dagegen als Phosphat nicht selten in fossilen Zähnen, zuweilen sogar in erheblicher Quantität. Knochen, welche längere Zeit in der Erde gelegen haben, sind oft von Vivianit (§ 41) blau gefärbt.

Nachweis der einzelnen Bestandtheile in Knochen, Zähnen, Verkalkungen.

Herstellung des Untersuchungsmaterials.

712. Die frischen, möglichst gereinigten und vom Mark befreiten Knochen werden 24 Stunden in fliessendem Wasser liegen gelassen, nochmals gründlich abgeschabt und durch Zerstossen, Zerreiben und Zermahlen zerkleinert. Zähne bezw. die einzelnen Zahnsubstanzen sowie Verkalkungen werden ebenfalls gründlich gereinigt und dann zerkleinert.

Kohlensäure. Man übergiesst einen Theil des Pulvers mit verd. Salzsäure und weist die frei gemachte Kohlensäure nach § 107 Schluss nach.

Fluorwasserstoff. Zum Nachweis dient das in § 17, 1 angegebene Verfahren. Man nehme nicht zu wenig (mindestens 5 g) der Asche, da

Hauchbilder allein, welche auch schon bei Benutzung von 1 g Asche auftreten, auch andere Ursachen der Entstehung haben können (Fresenius[1]).

Das § 47, 2 empfohlene Verfahren von Harms scheint entgegen den dort gemachten Angaben nach neueren Untersuchungen[2]) nicht die gleiche Empfindlichkeit zu haben.

Die übrigen Bestandtheile. Das Knochenpulver wird mit Wasser ausgewaschen (Kaltwasserauszug) und dann mit Alkohol und Aether extrahirt (Alkohol-Aetherauszug). Man behandelt die Massen jetzt mit verdünnter (0,2—0,5 proc.), mehrfach gewechselter Salzsäure, um die Salze in Lösung zu bringen und nach Filtration (Salzsäureauszug) und Entfernung der Salzsäure durch langes Auswaschen in fliessendem, zuletzt in destillirtem Wasser mit halbgesättigtem Kalkwasser (2—5 ccm auf je 1 g der feuchten Substanz), um das Osseomukoïd auszuziehen[3]). Diese Extraction ist nach 48stündigem Stehen und häufigem Umschütteln in verschlossenem Gefäss beendet. Jetzt wird filtrirt (Kalkwasserauszug) und die zurückbleibende Masse mit Salzsäure übergossen und von dieser und dem gebildeten Calciumchlorid durch Auswaschen mit Wasser (wie oben) völlig befreit. Man kocht nun mit einzelnen Wasserportionen je einige Stunden aus, so lange noch Collagen (als Glutin) gelöst wird (Heisswasserauszug). Auf diese Weise werden erhalten ein Kaltwasserauszug (1), ein Alkohol-Aetherauszug (2), ein Salzsäure- (3), ein Kalkwasser- (4) und ein Heisswasserauszug (5).

1. Kaltwasserauszug. Er enthält sehr geringe Mengen nicht weiter untersuchter Substanzen, unter denen sich jedenfalls aus den Zellen stammende lösliche Eiweissstoffe und Extractivstoffe finden werden. In osteomalacischen Knochen fand C. Schmidt Milchsäure und durch diese bedingte saure Reaction der Knochenflüssigkeit. Indessen erscheint die Richtigkeit dieser Angabe zweifelhaft (Levy[4]). Die Untersuchung auf Milchsäure würde nach S. 66 zu geschehen haben.

lösliche Eiweissstoffe, Extractivstoffe.

2. Alkohol-Aetherauszug. Die Untersuchung auf Fett, Cholesterin, Lecithin erfolgt nach § 642.

Fett, Lecithin, Cholesterin.

3. Salzsäureauszug. Derselbe enthält die anorganischen Bestandtheile mit Ausnahme der Kohlensäure. Man engt ihn ein und untersucht ihn nach § 432 auf Calcium, Magnesium, Phosphorsäure sowie nach § 431, 5 u. 6 auf Kalium und Natrium. Für die Prüfung auf Salzsäure ist ein Theil des, wie oben beschrieben, gereinigten Knochenpulvers statt mit Salzsäure mit Salpetersäure zu extrahiren und der Nachweis nach § 431, 2 zu führen.

anorganische Salze.

4. Kalkwasserauszug. Ueber die Darstellung des in ihm enthaltenen Osseomukoïds siehe § 397.

Osseomukoïd.

[1]) Qualit. Analyse. S. 283. (1895.)

[2]) Jodlbauer, Zeitschr. f. Biol. 41. 486. (1901.)

[3]) Hawk u. Gies, Amer. Journ. of Physiol. 5. 387. (1901.)

[4]) Zeitschr. f. physiol. Chemie. 19. 239. (1894.)

Glutin. 5. Heisswasserauszug. Die einzelnen, Glutin enthaltenden Auszüge werden vereinigt und eingeengt: beim Erkalten gelatinirt die Flüssigkeit, deren weitere Untersuchung nach § 343 geschieht.

Bestimmung des Gesammtstickstoffs, der einzelnen Aschebestandtheile, der Gesammtasche in Knochen u. s. w.

713. Für diese Bestimmungen benutzt man Proben der in der § 712 angegebenen Weise gereinigten, pulverisirten Substanz, nachdem man sie bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet hat.

714. **Gesammtstickstoff, einzelne Aschebestandtheile.** Man bestimmt den Gesammtstickstoff nach Kjeldahl (§ 453 b) unter Benutzung von 0,5 g, die einzelnen Aschebestandtheile nach § 433 ff.

Kohlensäure. Die Ermittelung des Kohlensäuregehaltes geschieht nach § 450, indem man 5 g oder mehr des Pulvers verwendet. Man hat dabei nicht zu befürchten, dass die organische Substanz mit der verd. Salzsäure Kohlensäure entwickelt, während dagegen die Bestimmung der Kohlensäure nach dem Veraschen durch Glühen ein zu niedriges Resultat giebt (Wibel).

715. **Gesammtasche.** Man extrahirt einige Gramm mit Alkohol und Aether, verascht, befeuchtet den Rückstand nach dem Erkalten (zur Restituirung der ausgetriebenen Kohlensäure*) mit Ammoncarbonat, trocknet, erhitzt wieder bis zum gelinden Glühen und wägt nach dem Erkalten. Man löst nun die Asche in einem Becherglase in verdünnter Salzsäure, filtrirt etwa vorhandene Kohle durch ein gewogenes aschefreies Filter ab, wäscht mit Wasser gut aus, trocknet, wägt Filter und Kohle und zieht das Gewicht der Kohle von dem der Asche ab.

Quantitative Analyse der Asche von Knochen u. s. w.

Herstellung der Asche nach S. Gabriel. 716. Herstellung der Asche nach S. Gabriel[1]). Man erhitzt in einem etwa 250 ccm fassenden Kölbchen etwa 10—15 g der Substanz mit 75 ccm Glycerinlauge (30 g Aetzkali in 1000 ccm Glycerin) unter häufigem Umschütteln allmählich bis auf 200° und erhält ungefähr 1 Stunde bei dieser Temperatur. Die Einwirkungsdauer hängt im Wesentlichen von der Festigkeit des Gewebes und dem Feinheitsgrade des Pulvers ab. Die bis auf 150° erkaltete Masse giesst man in eine Schale, in der sich 500 ccm kochendes Wasser befinden, rührt um, lässt absitzen, zieht die überstehende Flüssigkeit mit einem mit Leinwand überspannten Heber ab, übergiesst wieder mit Wasser und wiederholt diese Operationen so oft, bis das Waschwasser keine Spur alkalischer Reaction mehr zeigt. Der auf ein Filter gebrachte und getrocknete Rückstand darf beim Glühen keine Spur einer

---

*) Die Restitution ist aber nur eine theilweise. Wibel, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **7.** 220. (1874.) Journ. f. pract. Chem. N. F. **9.** 113. (1874.)

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **18.** 275. (1894.)

Bräunung zeigen. Ist das der Fall, so muss das Erhitzen mit Glycerinlauge wiederholt werden.

Ausführung. Von dieser Asche benutzt man einzelne Portionen für die unter 1 bis 6 aufgeführten Bestimmungen. Da sie sehr hygroskopisch ist, so wägt man sie am besten lufttrocken ab, bestimmt in einer besonderen Portion den Wassergehalt durch Trocknen bei 130° bis zum constanten Gewicht und berechnet die Analysenwerthe auf Trockengewicht.

1. Calcium, Magnesium, Phosphorsäure. Man löst die abgewogene Menge (3—4 g) in Salzsäure, macht mit Ammoniak alkalisch und fügt Essigsäure hinzu, so lange sich noch etwas vom Niederschlage auflöst. Die klare, event. filtrirte*) Lösung wird mit Ammonoxalat ausgefällt und der Kalk nach § 434, a 1 bestimmt. Gesammtmenge des im Knochen vorhandenen Calciums. Calcium.

Filtrat (+ Waschwasser) wird auf ein kleines Volumen eingeengt, mit Ammoniak stark übersättigt und 12 Stunden in der Kälte stehen gelassen. Man verfährt weiter nach § 434 b: Magnesium, welches im Knochen als Magnesiumphosphat vorhanden war. Magnesiumphosphat.

Filtrat (+ Waschwasser) wird event. wieder eingeengt, mit Magnesiamischung (Anh.) gefällt und weiter nach § 434 b behandelt. Das gefundene Magnesiumpyrophosphat wird auf P_2O_5 umgerechnet (Anh.) Diese Phosphorsäuremenge war im Knochen als Calciumphosphat vorhanden. Calciumphosphat.

2. Kalium, Natrium. Man löst die abgewogene Menge (5 g oder mehr) in Salzsäure und verfährt nach § 433. Kalium, Natrium.

3. Kohlensäure. Die Bestimmung, zu der man mindestens 3 g zu nehmen hat, geschieht nach § 450. Kohlensäure.

4. Salzsäure. Die Menge ist sehr gering, zu ihrer Bestimmung löst man eine abgewogene Menge in Salpetersäure und verfährt nach § 441. Salzsäure.

5. Fluorwasserstoff. Die sehr kleinen Mengen von Fluorwasserstoff genau zu bestimmen, macht Schwierigkeiten. Die Methode von Carnot[1]) (Wägung als Kaliumsiliciumfluorid) scheint brauchbar zu sein. Von Jodlbauer (a. a. O.) wird die gasanalytische Methode von Hempel empfohlen, während das Fresenius'sche Verfahren in der Modification von Brandl[2]), welches auf der Abscheidung von Kieselsäure aus Siliciumfluorid beruht, nach Jodlbauer zu niedrige Werthe liefert. Fluorwasserstoff.

6. Wasser[3]). a) Krystallwasser. Dasselbe entweicht erst bei etwa 350°. Da bei dieser Temperatur auch Kohlensäure ausgetrieben wird, Krystallwasser.

---

*) Bei frischen und gut gereinigten Knochen und Zähnen tritt völlige Lösung ein: bei fossilen Zähnen hinterbleibt nicht selten ein unlöslicher Rückstand von Ferriphosphat. Derselbe wird auf einem kleinen, aschefreien Filter gesammelt, ausgewaschen, getrocknet, geglüht und gewogen.

1) Compt. rendus. **114.** 750. (1892.)

2) Harms, Zeitschr. f. Biol. **38.** 487. (1899.)

3) Gabriel, a. a. O. S. 276 u. S. 296.

so muss die Bestimmung in der Weise geschehen, dass man die Substanz wie bei der Elementaranalyse im Platinschiffchen mit übergeleitetem trocknen Luftstrom erhitzt und das Wasser in einem vorgelegten Chlorcalciumrohr auffängt.

Constitutionswasser.

b) Constitutionswasser. Dasselbe entweicht erst beim Glühen mit wasserfreier Kieselsäure.

Analyse bei geringer Substanzmenge.

Wenn es an der erforderlichen Substanz mangelt, so kann man in der Asche die Kohlensäure nach § 450 bestimmen, indem man dieselbe statt mit Salzsäure mit Salpetersäure austreibt. In der salpetersauren Lösung bestimmt man dann das Chlor als Chlorsilber, entfernt das überschüssige Silber durch Salzsäure und ermittelt im Filtrat den Gehalt an Calcium, Magnesium und Phosphorsäure nach 1.

Bestimmung des Collagens in Knochen und Zähnen.

717. Man extrahirt das nach § 712 hergestellte und bei 110° getrocknete und gewogene Pulver nacheinander mit Alkohol und Aether, mit verdünnter Salzsäure und halbgesättigtem Kalkwasser in der § 712 beschriebenen Weise und wäscht zunächst mit verdünnter Salzsäure; dann mit Wasser bis zum Verschwinden der sauren Reaction des Waschwassers. Die Masse wird jetzt mit Wasser in ein Glasrohr eingeschmolzen und etwa 24 Stunden bei 100° im Wasserbade oder bei 105—110° im Oelbade erhitzt. Man filtrirt dann kochend heiss durch ein Faltenfilter, wäscht mit kochendem Wasser aus, verdunstet, trocknet bei 110° und wägt.

Untersuchung des Knorpelgewebes.

718. **Bestandtheile.** Der Knorpel besteht aus der Intercellularsubstanz und den in sie eingelagerten Zellen. Beim hyalinen Knorpel ist sie frei von faserigen Beimischungen, beim elastischen wird sie von elastischen, beim Bindegewebsknorpel von fibrillären Fasern durchzogen. Die Intercellularsubstanz enthält Chondromukoïd, Chondroïtinschwefelsäure, Collagen und Albumoïd (C. Th. Mörner[1]), ferner etwas durch verdünnte Kochsalzlösung ausziehbare Globulinsubstanz (Hoppe-Seyler), ätherlösliche Stoffe und anorganische Salze (Calcium, wenig Magnesium und Natrium, kein Kalium oder nur Spuren davon, Phosphorsäure, Salzsäure und Schwefelsäure). Eine Trennung der Intercellularsubstanz von den Zellen ist unausführbar.

719. **Untersuchung.** a) Durch Erhitzen mit Wasser bei 110—120° werden dem Knorpel Chondromukoïd, Chondroïtinschwefelsäure und Leim entzogen (Chondrinlösung § 345), während Albumoïd, Knorpelzellen und, bei elastischem Knorpel, auch Elastin (Hoppe-Seyler) zurückbleiben.

b) Zur Isolirung der einzelnen organischen Bestandtheile behandelt man grosse Mengen des möglichst gereinigten und fein zerkleinerten hyalinen Knorpels in einzelnen Portionen in folgender Weise:

---

[1]) Skand. Arch. f. Physiol. **1**. 210. (1889.)

1. Chondromukoïd. Vergl. § 396.

2. Chondromukoïd und Albumoïd. Man digerirt die Masse 1 bis 2 Wochen bei 40° mit 0,1—0,2proc. Salzsäure, bis sämmtliches Collagen in Leim umgewandelt und ausgezogen worden ist, wäscht dann mit Wasser vollständig säurefrei, extrahirt mit 0,05—0,1proc. Kalilauge und filtrirt. Auf dem Filter bleibt zusammen mit Knorpelzellen das Albumoïd (§ 347), aus dem Filtrat fällt auf Zusatz von verdünnter Säure das Chondromukoïd, dessen Reinigung weiter nach § 396 erfolgt (C. Th. Mörner).

3. Glutin und Albumoïd. Man behandelt den Knorpel zur Entfernung von Chondromukoïd und Chondroïtinschwefelsäure mit 0,2—0,5proc. Kalilauge, wäscht mit Wasser alkalifrei, kocht im Papin'schen Topf und filtrirt. Auf dem Filter bleibt das mit Knorpelzellen verunreinigte Albumoïd, aus dem Filtrat scheidet sich beim Sättigen mit Natriumsulfat der Leim (aus dem Collagen während des Kochens entstanden) ab, dessen wässrige Lösung durch Dialyse von Salz befreit werden kann (C. Th. Mörner).

4. Chondroïtinschwefelsäure. Vergl. § 180.

e) Was die anorganischen Salze betrifft, so ist man auf die Untersuchung des Ascherückstandes angewiesen. Diese liefert aber insofern kein richtiges Bild, als auch die aus der Chondroïtinschwefelsäure stammende Schwefelsäure sich in der Asche befindet.

Untersuchung des Bindegewebes.

720. **Bestandtheile.** Die Grundsubstanz des Bindegewebes, in die wenig zahlreiche Zellen eingelagert sind, besteht aus collagenen und elastischen Fasern. Ueberwiegen die collagenen, so spricht man von fibrillärem Bindegewebe, überwiegen die elastischen von elastischem Gewebe. Ausser Collagen und Elastin finden sich gerinnbare Eiweissstoffe in kleinen Mengen, Glykoproteïd, ätherlösliche Substanzen, Extractivstoffe z. B. Kreatin, anorganische Salze (Salzsäure, Phosphorsäure, Schwefelsäure, Kieselsäure[1]), Natrium, Kalium, Calcium, Magnesium, Eisen).

721. **Untersuchung[2]).** Zur Isolirung der Bestandtheile behandelt man einzelne Portionen des von anhaftendem Gewebe befreiten und gut zerkleinerten Materials*) in folgender Weise:

a) Eiweissstoffe. Man extrahirt mehrere Tage mit verd. Kochsalz-

---

*) Als fibrilläres Bindegewebe benutzt man am besten die Achillessehne vom Rind, als elastisches Gewebe das Lig. nuchae vom Rind.

[1]) H. Schulz, Arch. f. d. ges. Physiol. **84**. 67. (1901.) u. **89**. 112. (1902.)

[2]) Vandergrift u. Gies, The composition of yellow fibrous connective tissue. Americ. Journ. of Physiol. **5**. 287. (1901.)

Buerger u. Gies, The chemical constituents of tendinous tissue. Ebendas. **6**. 219. (1902.)

Ferner die eben erschienene Arbeit von Richards u. Gies, Chemical studies of elastin, mucoïd and other proteïds in elastic tissue. Ebendas. **7**. 92. (1902.) Dieselben wiesen in dem wässrigen Auszug des Lig. nuchae auch ein Nucleoproteïd nach.

lösung unter Thymolzusatz, filtrirt und erhitzt das Filtrat nach Zufügen von etwas Essigsäure: Es entsteht ein Niederschlag, welcher aus Eiweiss besteht.

b) Glykoproteïd und Collagen. Man extrahirt mehrere Tage mit halbgesättigtem Kalkwasser und filtrirt. Aus dem Filtrat scheidet sich auf vorsichtigen Zusatz von Salzsäure Glykoproteïd ab (§ 395). Der Rückstand wird mit Wasser kalkfrei gewaschen, mit Alkohol und Aether ausgezogen und darauf mit einzelnen Wasserportionen je einige Stunden ausgekocht: Das Collagen geht als Glutin in Lösung (§ 343).

c) Elastin siehe § 341.

d) Aetherlösliche Substanzen. Man extrahirt die getrocknete und fein pulverisirte Substanz mit Aether und untersucht den Aetherrückstand auf Cholesterin, Lecithin und Fett.

e) Extractivstoffe. Die Untersuchung des wässrigen Auszugs auf Kreatin u. s. w. geschieht wie es für seröse Flüssigkeiten (§ 550 ff.) angegeben ist.

f) Anorganische Salze. Für die Untersuchung der anorganischen Salze verascht man nach § 426 und prüft die Auszüge nach § 431 und § 432; doch ist dabei zu berücksichtigen, dass die Schwefelsäure wenigstens zum Theil aus organischen Bestandtheilen des Gewebes stammen kann.

7. Untersuchung der Organe.

Allgemeines.

Reinigen der Organe.

722. Die Organe sind möglichst frisch, für manche Zwecke, z. B. für Glykogenbestimmungen unmittelbar nach dem Tode in Arbeit zu nehmen und möglichst vollständig von anhaftenden bindegewebigen Bestandtheilen, Blutgefässen, Nerven u. s. w. frei zu präpariren. Je blutfreier ein Organ zur Untersuchung kommt, um so besser ist es. Der Verblutungstod schafft in dieser Beziehung die günstigsten Verhältnisse; auch Muskeln von menschlichen Extremitäten, die vor der Amputation mit der Esmarch'schen Binde behandelt waren, sind verhältnissmässig blutarm. Bei Thieren kann eine völlige Entfernung des Blutes durch Verblutenlassen und Ausspülen des ganzen Gefässsystems oder nur der Gefässe des einzelnen Organs mit 0,9proc. Kochsalzlösung erreicht werden; indessen werden dabei gleichzeitig wasserlösliche Substanzen der Gewebe selbst mit fortgeschafft, so dass dieses Verfahren nur unter bestimmten Umständen zur Anwendung gelangen kann.

Ein gelegentlich brauchbares, allerdings sehr umständliches Hülfsmittel, um die durch die Anwesenheit des Blutes in den Organen für qualitative und quantitative Untersuchungen bedingten Unsicherheiten zu vermeiden, ist folgendes: Man bestimmt in einer abgewogenen Menge des Organs colorimetrisch durch Vergleichung mit einer gewogenen Menge des Blutes desselben Individuums nach § 590 ff. den Blutgehalt und ermittelt andererseits sowohl im Blut als im Organ den Procentgehalt der Substanz, um die es sich

handelt. Durch Rechnung lässt sich dann leicht ermitteln, ob und in welcher Menge die Substanz sich im (blutfreien) Organ findet.

Stets ist es nöthig, das Organ vor der Untersuchung zu zerkleinern und in einen möglichst gleichmässigen und möglichst feinen Brei zu verwandeln. Es geschieht das durch Zerschneiden mit Messer und Scheere und Zerreiben in der Reibschale, wenn es sich um kleine Mengen oder mit der Fleischhackmaschine oder dem Hackmesser, wenn es sich um grössere Quantitäten handelt. Das Zerreissen und Zerschneiden in der Hackmaschine ist sehr schnell ausführbar, aber gleichmässiger und in beliebiger Feinheit gelingt die Zerkleinerung mit schwerem Wiegemesser auf einem Brett aus hartem Holz. Dieses letztere Verfahren bietet auch grössere Sicherheit dafür, dass die einzelnen Fasern und Zellen zerschnitten und nicht bloss zerrissen werden. Das Zerreiben der grob zerstückelten Masse mit Glasstücken oder Sand gelingt ziemlich schnell und gut; es geht aber leicht der abgeriebene Kiesel- oder Glasstaub als Trübung durchs Filter, wenn eine Filtration der wässrigen Auszüge des Organbreies angeschlossen wird. Ueber einen Apparat, der die Organe in hartgefrorenem Zustande in eine schneeartige Masse zu zerkleinern gestattet, siehe Kossel[1]). Zerkleinern der Organe.

Eine Isolirung der Zellen der Organe gelingt in manchen Fällen, z. B. bei der Leber, Milz, Thymus, indem man das entblutete, mit Kochsalzlösung ausgespülte Organ durch Leinwand knetet. Bindegewebe, Gefässe u. s. w. bleiben zurück. Der durchgepresste Brei besteht zum grössten Theil aus unbeschädigten Zellen (Plósz[2]), Krüger[3]). Isolirung der Zellen.

Untersuchung der Muskeln.

723. **Bestandtheile.** Der Muskel ist zusammengesetzt aus Muskelfasern, die durch fibrilläres Bindegewebe zusammengehalten werden. Er enthält ungefähr 75 pCt. Wasser und 25 pCt. feste Stoffe. Die festen Bestandtheile der Muskelfasern sind zum grössten Theil (80 pCt.) Proteïnstoffe u. z. hauptsächlich Eiweissstoffe, daneben in kleiner Menge Nucleoproteïd und Oxyhämoglobin (§ 355). Die Eiweissstoffe des frischen nicht geronnenen Muskels*) (Muskelplasma) sind nach v. Fürth[4]) Myogen (§ 286), Myosin (§ 287) und zuweilen ein wenig lösliches Myogenfibrin (§ 286). Die Eiweissstoffe des abgestorbenen Muskels sind noch ungenügend bekannt; der am reichlichsten vorkommende wird ebenfalls Myosin genannt, ist aber in seinen Beziehungen zum Myosin des Plasmas noch nicht genügend aufgeklärt.

---

*) Das Fischmuskelplasma enthält ausserdem noch Myoproteïd (v. Fürth, Citat 4). Ueber die Eiweissstoffe der längsgestreiften Muskeln und der Wirbellosen siehe die S. 312 und S. 313 citirten Arbeiten.

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **33**. 5. (1901.)

2) Arch. f. d. ges. Physiol. **7**. 371. (1873.)

3) Zeitschr. f. Biol. **27**. 448. (1890.)

4) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **36**. 231. (1895.)

Serumalbumin und Serumglobulin, die sich ebenfalls finden, gehören vielleicht dem Blut an. Ferner sind in den Muskelfasern nachgewiesen: Inosinsäure, Nucleïnbasen (§ 124), Carnin, Carnosin, Phosphorfleischsäure, Ammoniak, Harnstoff (reichlich bei Haifischen und Rochen), Kreatin, Kreatinin, Spuren von Harnsäure (reichlicher bei Alligatoren) und von Taurin (reichlicher bei Cephalopoden), Glykogen, Dextrin (?), Traubenzucker, Milchsäure, flüchtige Fettsäuren, Seifen, Fett, Lecithin, Cholesterin, Inosit, proteolytisches Ferment, anorganische Stoffe (etwa 5 pCt.) u. z. Kalium, Natrium, Calcium, Magnesium, Eisen, gebunden an Phosphorsäure und Salzsäure. Unter den Basen überwiegt das Kalium und unter den Säuren die Phosphorsäure bei weitem, Magnesium findet sich meist mehr als Calcium. Salzsäure ist nur in sehr geringer Menge vorhanden und Schwefelsäure in noch geringerer. Etwas Kieselsäure ist auch nachgewiesen.

Nachweis der anorganischen Salze in den Muskeln.

724. Der mit Wasser fein zerriebene Muskelbrei wird mit Alkohol verrührt und die weitere Untersuchung nach § 541 ausgeführt.

Nachweis der Proteïnstoffe in den Muskeln.

im frischen Muskel.

725. a) Im frischen (quergestreiften) Muskel. Ueber die Darstellung des Myogens und Myosins aus Muskelplasma siehe § 286 und § 287 und die dort citirte Arbeit von v. Fürth.

im abgestorbenen Muskel.

b) Im abgestorbenen (quergestreiften) Muskel. Man rührt den Muskelbrei (etwa 100 g) in der Reibschale mit der ungefähr doppelten Menge eiskalten Wassers zusammen, lässt unter Umrühren einige Stunden bei niedriger Temperatur stehen und filtrirt durch lockere Leinwand (Wasserauszug). Der Rückstand wird ausgepresst und noch wiederholt in gleicher Weise mit grösseren Wassermengen behandelt, darauf mit der doppelten Menge 0,15proc. Sodalösung verrührt, ausgepresst, mit der gleichen Menge Wasser verrührt und nach einigen Stunden filtrirt und ausgepresst (Sodaauszug). Man behandelt jetzt in der gleichen Weise mehrmals mit 12—15proc. Salmiaklösung, indem man jedesmal unter häufigem Umrühren einige Stunden stehen lässt (Salmiakauszug) und darauf (nach Entfernung des Salmiaks aus der rückständigen Masse durch viel Wasser) mit 0,1proc. Salzsäure (4 ccm conc. Salzsäure auf 1 Liter Wasser) u. z. so oft, bis eine Probe der salzsauren Lösung beim Neutralisiren mit Soda oder auf Zusatz von Ferrocyankalium nicht mehr wie Spuren eines Niederschlags giebt (Salzsäureauszug). Jetzt wird die wiederum ausgepresste und mit Wasser gewaschene Masse mit verdünnter Kalilauge (1—2 g Aetzkali auf 1 Liter Wasser) zusammengerieben und nach einigem Stehen ebenfalls filtrirt (Alkaliauszug). Man erhält auf diese Weise einen Wasser- (1), Soda- (2), Salmiak- (3), Säure- (4) und Alkaliauszug (5) sowie einen Rück-

stand (6). Von allen Auszügen wird eine für die Untersuchung geeignete Menge durch Papier klar filtrirt (event. unter Druck durch einen Papierbrei).

1. Wässriger Auszug. Bestimmt man die Coagulationspunkte in der § 24 beschriebenen Weise, so wird man mehrere durch ihre Gerinnungstemperatur sich unterscheidende Eiweissstoffe nachweisen können. Bestimmte Angaben über die Natur der einzelnen Albuminstoffe können bei dem jetzigen Stande unserer Kenntnisse nicht gemacht werden. Beim langsamen Erwärmen erscheint Trübung und flockiger Niederschlag bei 45—48°. Alles, was bis etwa 55° ausfällt, scheint dem Myosin (§ 287) zuzugehören. Myosin. Zwischen 60 und 70° erfolgt wieder Trübung und bei 72—75° flockige Fällung. Diese beiden Abscheidungen bestehen wohl aus Serumalbumin Serumalbumin. (§ 282) und Serumglobulin (§ 290). Serumglobulin. Ist Blutfarbstoff zugegen, so giebt derselbe gleichfalls bei dieser Temperatur Coagula, scheidet sich aber erst beim Sieden vollständig aus. Der Rest des wässrigen Auszugs wird zum Kochen erhitzt und filtrirt, das eiweissfreie Filtrat nach S. 372 oben auf Phosphorfleischsäure*) verarbeitet. Phosphorfleischsäure.

2. Sodaauszug. Er giebt auf Zusatz von Essigsäure einen erst in reichlichem Uebersehuss der Essigsäure löslichen Niederschlag. Man trennt ihn durch Centrifugiren, löst ihn in sehr verdünntem Ammoniak, fällt die Lösung wieder mit Essigsäure, centrifugirt und wäscht mit Wasser: Nucleoproteïd (§ 375), das man nach § 543, 1b prüfen kann. Nucleoproteïd.

3. Salmiakauszug. Er enthält die Hauptmenge des Myosins Myosin. (§ 287) und giebt in Folge dessen einen Niederschlag beim Eintropfen der Lösung in Wasser und eine Ausscheidung bei ihrer Sättigung mit Kochsalz. Die Sättigung lässt sich am besten erreichen durch Einstellen eines über die Oberfläche hinausragenden Steinsalzkrystalls in die Flüssigkeit; die Ausscheidung des Myosins erfolgt als schleimiger Ueberzug um den Krystall. Die Lösung des abfiltrirten Niederschlags in wenig Wasser gerinnt bei etwa 55°.

4. Salzsäureauszug. Das in dieser Lösung enthaltene und durch Neutralisation mit Soda sowie durch Sättigen mit Kochsalz ausfallende Acidalbumin ist als ein Umwandlungsproduct des Myosins, dessen Ex- Acidalbumin. traction durch Salmiaklösung niemals völlig gelingt, anzusehen.

5. Alkaliauszug. Auf Zusatz von Säuren fällt eine Substanz aus, die sich leicht in verdünntem Alkali (aber nicht bei Gegenwart von Salmiak) löst. Sie gehört weder den Nucleoproteïden noch den Glykoproteïden zu[1]).

6. Rückstand. Mit Wasser und schwach essigsaurem Wasser ge-

*) Für den Nachweis dieser Säure ist es zweckmässiger, von einer grösseren Menge Fleisch (500—1000 g) auszugehen.

[1]) Holmgren, Maly's Jahresber. 1893. S. 360.
Goodman, Americ. Journ. of Physiol. 4. 260. (1900.)

waschen geht er bei anhaltendem Kochen zum Theil in Lösung. Das Filtrat Glutin. enthält das aus dem Collagen entstandene Glutin und erstarrt nach genügender Concentration auf dem Wasserbade beim Erkalten. Der auf dem Filter bleibende Rückstand besteht aus Sarkolemmschläuchen, elastischen Fasern, welche in ihrer mikroskopischen Structur kaum verändert sind.

Nachweis von ätherlöslichen Substanzen, Harnstoff, Harnsäure, Milchsäure, flüchtigen Fettsäuren, Inosit in den Muskeln.

726. Die Isolirung der ätherlöslichen Substanzen (aus etwa 50 bis 100 g Fleischbrei) geschieht nach § 556, der Nachweis von Lecithin, Cholesterin, Fett in dem Aetherextract nach § 642. Harnstoff wird nach § 109, Milchsäure nach S. 66, flüchtige Fettsäure nach § 71, Inosit nach § 192 isolirt.

Nachweis*) von Kreatin, Kreatinin, Nucleïnbasen, Milchsäure, Taurin, Inosit in den Muskeln**).

727. **Kreatin, Nucleïnbasen**[1]**).** 200—500 g oder mehr vom Muskelbrei werden mit dem ungefähr gleichen Gewicht Wasser gründlich verrührt und auf dem Wasserbade unter stetem Umrühren auf 55—60° erwärmt. Die Flüssigkeit wird colirt, der Rückstand mit der Hand in kleinen Portionen ausgepresst, wieder mit 60—80 ccm Wasser angerührt und zum zweiten Male gründlich ausgepresst. Die vereinigten Flüssigkeiten werden über freiem Feuer unter Umrühren zum Kochen erhitzt und nach dem Erkalten von den ausgeschiedenen Eiweissstoffen abfiltrirt. Jetzt fällt man mit Bleiessig, so lange ein Niederschlag entsteht, aber unter Vermeidung eines grossen Ueberschusses, filtrirt, leitet Schwefelwasserstoff ein, filtrirt wieder und dampft auf dem Wasserbade bis auf 5—10 ccm ab. Während zwei- bis dreitägigen Stehens an einem kühlen Orte krystallisirt aus der gelblichen, Kreatin. syrupösen Flüssigkeit das Kreatin aus. Der Nachweis geschieht nach Quantitative Bestimmung. § 116. Für die Bestimmung sammelt man die Krystalle auf gewogenem Filter, wäscht mit 88proc. Alkohol aus, trocknet bei 100° und wägt.

Die von den Kreatinkrystallen abgesaugte Flüssigkeit wird nach Zusatz von Ammoniak mit Silbernitrat versetzt. Der Niederschlag besteht Nucleïnbasen. aus den Silberverbindungen der Nucleïnbasen. Löst man den einmal mit Wasser gewaschenen Niederschlag in wenig Salpetersäure (spec. Gew. 1,1) auf dem Wasserbade und filtrirt heiss, so scheiden sich beim Erkalten

*) Kreatin und Kreatinin lassen sich nach diesem Gange auch annähernd quantitativ bestimmen. Natürlich muss dann von einer genau abgewogenen Menge Muskel ausgegangen werden.

**) Ein geeignetes Object für die Isolirung dieser Substanzen stellt auch das Fleischextract dar.

[1]) Neubauer, Zeitschr. f. analyt. Chem. **2**. 26. (1863.) **6**. 33. (1867.)

die Nucleïnbasen als Silbernitratverbindungen theilweise krystallinisch ab. Wegen der Isolirung der einzelnen Nucleïnbasen siehe § 734.

728. **Kreatinin, Milchsäure, Taurin.** Nachdem zunächst das Kreatin nach § 727 entfernt ist, dampft man das Filtrat (+ Waschalkohol) nach Zusatz von etwas Bariumcarbonat zur Trockne ein, erschöpft den Rückstand mit absol. Alkohol und filtrirt.

Filtrat. Man setzt zu der (event. etwas eingeengten) Flüssigkeit ein wenig alkoholische säurefreie Chlorzinklösung (spec. Gew. 1,2). Während mehrtägigen Stehens scheidet sich das Kreatinin als Chlorzinkverbindung ab. Für den Nachweis kocht man die abfiltrirten Krystalle mit Bleioxydhydrat, filtrirt und prüft das Filtrat mit Hülfe der S. 131 angegebenen Reactionen. Ueber die quantitative Bestimmung siehe das Nähere § 482. Kreatinin. Quantitative Bestimmung.

Die von dem Kreatinchlorzink abfiltrirte alkoholische Lösung wird auf dem Wasserbade verdunstet, der syrupöse Rückstand mit Phosphorsäure angesäuert und wiederholt mit grossen Mengen Aether ausgeschüttelt. Aus dem Rückstand der Aetherauszüge stellt man nach S. 66 das Zinksalz der Milchsäure dar und identificirt dasselbe durch Bestimmung des Krystallwasser- und Zinkgehaltes (S. 68). Milchsäure.

Rückstand. Die conc. wässrige Lösung des Rückstandes wird der langsamen Verdunstung überlassen. Scheiden sich keine Krystalle ab, so kann man eine Abscheidung von Taurin durch Quecksilberoxyd versuchen (§ 157). Der nach § 55 festzustellende bedeutende Schwefelgehalt des Taurins erleichtert die Auffindung selbst bei sehr kleinen Mengen. Taurin.

729. **Inosit.** Die von den Kreatinkrystallen abfiltrirte Flüssigkeit (siehe § 727) wird nach dem Verfahren von Boedeker (S. 221 oben) weiter behandelt. Inosit.

Nachweis von Glykogen*), Milchsäure, Zucker in den Muskeln.

730. Die unmittelbar nach dem Tode in Brei verwandelten Muskeln werden in siedendes Wasser eingetragen, kurze Zeit im Sieden erhalten und colirt. Der Rückstand wird in der Reibschale zerrieben, wieder in Wasser eingetragen, aufgekocht, filtrirt und das Verfahren nochmals wiederholt. Die Filtrate werden nach Zusatz von etwas Barium- oder Magnesiumcarbonat auf dem Wasserbade eingeengt, auf ein kleines Volumen (etwa $^1/_{10}$ der Muskelmenge) eingeengt, mit der dreifachen Quantität absol. Alkohols gefällt und nach dem Absitzen des Niederschlags filtrirt.

Niederschlag. Man löst den Niederschlag in Wasser und isolirt aus der wässrigen Lösung nach § 100 das Glykogen. Glykogen.

Filtrat. Man dampft weiter bis zum Syrup ein (zuletzt, um Bräunung zu vermeiden, unterhalb 70°), fällt mit absol. Alkohol, giesst die alkoholische Lösung nach mehrstündigem Stehen vom Niederschlage, welcher

*) Will man nur Glykogen nachweisen, so verfährt man direct nach § 100.

Dextrin (§ 101) enthalten kann, ab, entfernt den Alkohol durch Eindampfen und schüttelt den Rückstand nach Ansäuern mit Schwefelsäure wiederholt mit viel Aether aus. Ueber die Verarbeitung der Aetherauszüge auf Milchsäure siehe weiter § 728. Der in Aether unlösliche Theil wird nach Verdunsten des Aetherrestes in Wasser gelöst und die Lösung mit der Trommer'schen Probe (§ 92, 4) auf Zucker geprüft.

Milchsäure.

Zucker.

Für die quantitative Bestimmung neutralisirt man mit Sodalösung, misst das Volumen und titrirt mit der Flüssigkeit Fehling'sche Lösung (§ 498).

Maltose.

Auf neben Traubenzucker vorhandene Maltose, welche übrigens nach Panormoff[1]) in den Muskeln nicht vorkommen soll, prüft man mit Hülfe von Phenylhydrazin (das Maltosazon scheidet sich erst beim Erkalten ab, S. 100). Eine quantitative Bestimmung beider Zucker nebeneinander geschieht nach § 604, indem man die eine Hälfte der gemessenen Flüssigkeit nach Neutralisation und abermaliger Feststellung des Volumens mit Fehling'scher Lösung titrirt, die andere Hälfte, nachdem sie $1/_4$ Stunde am Rückflusskühler gekocht, dann neutralisirt und auf das gleiche Volumen gebracht worden ist. In der Lösung kann noch etwas Dextrin vorhanden sein, welches mit als Maltose bestimmt wird.

Quantitative Bestimmung von Maltose und Traubenzucker.

Nachweis und Bestimmung der gebundenen Pentose in den Muskeln.

731. Nachweis. Man kocht den Muskelbrei mit 0,5 proc. Ammoniaklösung, filtrirt, fällt das Filtrat mit Essigsäure und wäscht den abfiltrirten Niederschlag mit Wasser, Alkohol und Aether aus. Versetzt man nun etwas von dieser Substanz in einem Reagensglase mit 1 ccm Wasser, 1 ccm conc. Salzsäure und Phloroglucin und kocht, so tritt sofort oder allmählich eine himbeer- bis kirschrothe Färbung auf, welche den characteristischen Absorptionsstreifen zeigt (§ 105, 2) (Blumenthal[2]).

Bestimmung. Dieselbe beruht auf der Umwandlung der Pentose in Furfurol und Wägung des Furfurols als Furfurolphloroglucid. Näheres über diese Methode, deren zweckmässigste Ausführung noch nicht genau festgestellt ist, siehe in den Arbeiten von Grund[3]) und Tollens[4]).

Bestimmung von Trockenrückstand, Gesammtstickstoff, einzelnen anorganischen Bestandtheilen, Ammoniak in den Muskeln.

732. **Vorbereitung.** Etwa 50 g gut zerkleinerter und gemischter Muskelsubstanz werden in einer gewogenen Schale (+ Glasstab) genau abgewogen, mit so viel Alkohol zusammengerührt, dass die Masse krümlig wird, in dünner Schicht ausgebreitet und auf dem Wasserbade, dessen Temperatur weniger wie 80° beträgt, unter häufiger Durchmischung der Muskelpartikelchen mit dem Glasstabe getrocknet, bis der Alkoholgeruch

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. **17**. 596. (1893.)
2) Zeitschr. f. klin. Medicin. **34**. 166. (1898.)
3) Zeitschr. f. physiol. Chem. **35**. 111. (1902.)
4) Ebendas. **36**. 239. (1902.)

verschwunden ist. Ist die Masse jetzt noch nicht gut pulverisirbar, so wird nochmals Alkohol zugefügt und wieder verdunstet (E. Voit[1]). Nach mehrstündigem Stehen an der Luft stellt man das Gewicht fest und zerreibt die Masse in einer Reibschale zu einem möglichst feinen Pulver. Dieses lufttrockene Pulver wird in einem gut schliessenden Gefäss aufbewahrt und dient für die einzelnen Bestimmungen.

Trockenrückstand. Man wägt genau 1—2 g ab und trocknet zunächst bei etwa 80° und dann bei 100° bis zum constanten Gewicht. Man benutzt für diesen Zweck den Uhrglasapparat (§ 9).

Gesammtstickstoff*). Man verfährt nach Kjeldahl (§ 453 b) unter Benutzung von etwa 0,3 g. Das Abwägen geschieht in einem Wägeröhrchen (§ 12).

Einzelne anorganische Bestandtheile*). Der Gesammtschwefel wird nach § 444, das Gesammteisen nach § 435, die Gesammtphosphorsäure nach § 448 ermittelt. Für die Eisenbestimmung nimmt man mindestens 5 g, für die andern beiden 1—2 g. Kalium und Natrium werden nach § 433, Calcium und Magnesium nach § 434, Salzsäure nach § 440 bestimmt.

Ammoniak. Die Bestimmung geschieht nach § 549 unter Benutzung von frischer (nicht getrockneter) Substanz.

Bestimmung der anorganischen Salze in den Muskeln.

733. Eine directe Veraschung ist aus den § 541 angeführten Gründen nicht erlaubt. Man verfährt mit dem fein zerkleinerten und abgewogenen Muskelbrei in derselben Weise wie § 541 für die serösen Flüssigkeiten angegeben worden ist.

Bestimmung der beim Kochen mit verdünnter Säure aus den Muskeln erhaltenen Nucleïnbasen[2]).

734. 500 g**) vom Muskelbrei werden mit Wasser, dem für je 1 Liter 5—10 g conc. Schwefelsäure zugesetzt sind, 3—4 Stunden im Dampfkoch-

*) Man kann natürlich auch die frische Muskelsubstanz für diese Bestimmungen verwenden, doch bietet das vorherige Trocknen und Pulverisiren grössere Gewähr für einen richtigen Durchschnittswerth. Von der frischen Substanz nimmt man etwa die vierfache Menge (Abwägen § 12).

**) Von drüsigen Organen nimmt man weniger, 50—500 g.

[1]) Zeitschr. f. Biol. **35**. 555. (1898.)

[2]) A. Kossel, Zeitschr. f. physiol. Chem. **5**. 267. (1881.) **6**. 422. (1882.) **7**. 7. (1883.) **8**. 404. (1884.)
Schindler, Ebendas. **13**. 432. (1889.)
Bruhns, Ebendas. **14**. 533. (1890.)
Burián u. Schur, Ebendas. **23**. 55. (1897.)
M. Krüger u. G. Salomon, Ebendas. **24**. 364. (1898.) **26**. 350. (1899.)
W. His d. J. u. W. Hagen, Ebendas. **30**. 350. (1900.)
M. Krüger u. A. Schittenhelm, Ebendas. **35**. 153. (1902.)

topf bei 100—110° gekocht. Die Flüssigkeit wird noch heiss mit so viel Barytwasser versetzt, dass die Reaction nur noch eine schwach saure ist und heiss filtrirt. Der Filterrückstand wird zweimal mit Wasser ausgekocht und sodann mit siedendem Wasser erschöpft, die Filtrate werden auf ungefähr 1 Liter eingedampft, in der Wärme mit basischem Bleiacetat ausgefällt und filtrirt. Man erhält so einen Niederschlag (a) und ein Filtrat (b).

a) Niederschlag. Derselbe wird in Wasser zertheilt und mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Das Filtrat wird nach Verjagen des Schwefelwasserstoffs mit ammoniakalischer Silberlösung versetzt. Entsteht hierdurch eine Fällung, so wird diese abfiltrirt, ausgewaschen und dem aus dem Filtrat b zu gewinnenden Silberniederschlag hinzugefügt.

b) Filtrat. Dasselbe wird durch Schwefelwasserstoff vom Blei befreit, die vom Schwefelblei abfiltrirte Lösung nach dem Verjagen des Schwefelwasserstoffs mit überschüssigem wässrigem Ammoniak versetzt und mit ammoniakalischer Silberlösung ausgefällt. Der sorgfältig ausgewaschene Niederschlag wird (nachdem event. die in a erwähnte, aus dem Bleiniederschlag erhaltene Silberfällung hinzugefügt worden ist) in Wasser suspendirt und bei Wasserbadtemperatur mit verdünnter Salzsäure versetzt, bis das Silber völlig in Chlorsilber umgewandelt ist. Man fügt noch die gleiche Menge der vorhin gebrauchten Salzsäure hinzu, filtrirt heiss und wäscht den Niederschlag mit stark verdünnter Salzsäure aus.

1. Bestimmung des Guanins. Das Filtrat wird jetzt zur Entfernung der überschüssigen Salzsäure zur Trockne eingedampft, der Rückstand mit heissem Wasser aufgenommen, die Lösung auf ein Volum von 100—150 ccm gebracht und in der Wärme mit einer wässrigen Ammoniaklösung im Ueberschuss versetzt. Der Niederschlag enthält das Guanin. Die Fällung wird nach 24 Stunden abfiltrirt, noch einmal mit 2proc. Ammoniaklösung in der Wärme digerirt, nach weiteren 24 Stunden wiederum abfiltrirt, in wenig verdünnter Natronlauge gelöst, die Lösung nöthigenfalls filtrirt und durch Ansäuern mit Essigsäure wieder ausgefällt. Das Guanin wird bei 100° getrocknet und gewogen.

Guanin.

2. Bestimmung des Adenins. Die von dem Ammoniakniederschlage abfiltrirten Flüssigkeiten werden zur Vertreibung des überschüssigen Ammoniaks eingedampft, mit Wasser auf 100—150 ccm gebracht und nach Zusatz eines Tropfens wässriger Methylorangelösung tropfenweise mit Salzsäure bis zum Auftreten einer Rothfärbung versetzt. Man fügt jetzt eine kalte conc. Lösung von Natriumpikrat so lange hinzu, als noch ein weiterer Zusatz des Fällungsmittels zu einem Theil des Filtrats sofort eine Trübung erzeugt. Der Niederschlag von pikrinsaurem Adenin wird sofort mit Hülfe einer Saugvorrichtung abfiltrirt. Das Adeninpikrat wird bei 100° getrocknet und gewogen. Man bestimmt nun in einer kleinen Menge des Pikrats den Zersetzungspunkt. Liegt derselbe bei 281°, so ist das Adeninpikrat rein

und man berechnet daraus das Adenin nach der Formel $C_5H_5N_5.C_6H_2(NO_2)_3OH$; andernfalls wägt man einen aliquoten Theil des Niederschlags ab, suspendirt ihn unter Zusatz von wenig Salpetersäure in Wasser, befreit die Flüssigkeit durch Ausschütteln mit Benzol von der Pikrinsäure und fällt das Adenin mit ammoniakalischer Silberlösung aus. Der gut ausgewaschene Niederschlag dient zur Bestimmung des Stickstoffs nach Kjeldahl (§ 453 b) und somit zur Ermittelung des Gehalts an Adenin, dem event. noch das unter 4 erhaltene Adenin zuzufügen ist. Adenin (1).

3. Trennung von Hypoxanthin und Xanthin. Man säuert die vom Adeninpikrat abfiltrirte Flüssigkeit mit Salpetersäure an und entfernt die Pikrinsäure durch Ausschütteln mit Benzol. Hierauf fällt man Hypoxanthin und Xanthin mit ammoniakalischer Silberlösung aus und führt sie in oben angegebener Weise in die Chloride über, deren Lösung man zur Trockne verdampft. Der Rückstand wird zur völligen Entfernung der Salzsäure noch einmal mit Wasser und mehrere Male mit Alkohol eingedunstet, sodann in wenig Wasser gelöst und die Lösung zur Ausscheidung des Xanthins 24 Stunden hingestellt. Den aus Xanthin und Xanthinchlorhydrat bestehenden Niederschlag filtrirt man ab, wäscht mit Wasser aus und verfährt weiter nach 5.

4. Bestimmung des Hypoxanthins. Die vom Xanthin abfiltrirte Flüssigkeit wird mit einem kleinen Ueberschuss von Pikrinsäure in 50 ccm Wasser heiss gelöst. Wenn die Flüssigkeit sich beim Abkühlen gleichmässig trübt, so ist ein kleiner Theil des Adenins der ersten Pikratfällung entgangen. Die Trübung wird sofort abfiltrirt. Der Filterrückstand, nach dem unter 2 angegebenem Verfahren in die Silberverbindung des Adenins übergeführt, dient nach Ermittelung des Stickstoffgehalts zur Correctur der unter 2 gefundenen Adeninmenge. Die klare, von Adenin völlig freie Lösung scheidet Adenin (2). nach dem Einengen und Erkaltenlassen das Hypoxanthinpikrat in makroskopischen tafelförmigen Krystallen aus. Dasselbe wird abfiltrirt, in siedendem Wasser gelöst und mit neutraler oder nur schwach salpetersaurer Silbernitratlösung versetzt. Der Niederschlag besteht aus Hypoxanthinsilberpikrat, er wird bei 100° getrocknet und gewogen und dient zur Berechnung des Hypoxanthins nach der Formel $C_5H_3AgN_4O \,.\, C_6H_2(NO_2)_3OH$. Hypoxanthin.

5. Bestimmung des Xanthins. Die vom Hypoxanthinpikrat abfiltrirte Flüssigkeit wird mit Salpetersäure und Benzol von Pikrinsäure befreit und mit überschüssigem Ammoniak versetzt. In dieser Flüssigkeit löst man den aus Xanthin und Xanthinchlorhydrat bestehenden Niederschlag (siehe 3) und fällt die Lösung mit ammoniakalischer Silberlösung. Der Niederschlag dient zur Stickstoffbestimmung, aus deren Resultat die Menge des Xanthins Xanthin. berechnet wird.

Bestimmung der ätherlöslichen Substanzen in den Muskeln.

735. 1. Man wägt einige Gramme des gut gemischten Fleischbreies ab, übergiesst sie in einem Becherglase mit der etwa fünffachen Menge

absol. Alkohols, lässt 24 Stunden unter wiederholtem Umrühren bedeckt stehen und verfährt weiter nach § 556. Die Aetherextraction wird 24 Stunden fortgesetzt.

Für die Einzelbestimmungen von Lecithin, Cholesterin und Fett in diesem Aetherextract, welche nach § 560 B 3 b zu geschehen hat, ist von einer grösseren Menge Fleischbrei auszugehen.

2. Nach Pflüger-Dormeyer[1]). Das getrocknete Organpulver wird vor der Aetherextraction einer Aufschliessung durch Verdauung mit Pepsinsalzsäure oder durch Kochen mit verdünnter Salzsäure unterworfen. Das Nähere siehe in den Originalarbeiten.

Bestimmung des Glykogens in den Muskeln.

736. Die Bestimmung des Glykogens geschieht entweder nach der von Pflüger[2]) verbesserten Methode von Brücke[3])-Külz[4]) (Kochen des Organbreies mit Kalilauge, Entfernung der Eiweissstoffe mit Hülfe von Quecksilberjodidjodkalium und Salzsäure, Fällen des Glykogens mit Alkohol) oder nach Pflüger-Nerking[5]). Da letzteres Verfahren das wesentlich einfachere ist, so soll es allein beschrieben werden.

Verfahren nach Pflüger-Nerking.

737. Verfahren nach Pflüger-Nerking.

Princip. Die Methode beruht darauf, dass unter Einhaltung bestimmter Verhältnisse aus der alkalischen Organlösung nach Zusatz von Jodkalium durch Alkohol alles Glykogen, aber kein Eiweiss gefällt wird. Die Menge des isolirten Glykogens kann durch Wägung und Abzug des stets vorhandenen Aschegehaltes oder einfacher durch Hydrolyse und Bestimmung des gebildeten Traubenzuckers nach Pflüger-Volhard (§ 555) festgestellt werden.

Indessen ist zu bemerken, dass ein ganz exactes Verfahren, den Glykogengehalt der Organe zu bestimmen, zur Zeit nicht bekannt ist. Aus den Beobachtungen von Nerking[6]), welcher feststellte, dass die Menge des gefundenen Glykogens wechseln kann mit der Dauer des Kochens und mit der Concentration des Alkalis u. z. derart, dass sowohl längeres Kochen als auch höherer Alkaligehalt bald eine Vermehrung, bald eine Verminderung der Ausbeute zur Folge haben können, geht hervor, dass alle quantitativen Glykogenbestimmungen mit einem unberechenbaren Fehler behaftet sind, der seinen Grund in der Aufschliessung der Organe mit Kalilauge hat*). Das Kochen mit Kalilauge ist aber andrerseits nicht zu umgehen, da beim Kochen mit Wasser allein ein grosser Theil des Glykogens in den Geweben zurückbleibt.

---

*) In einer eben erschienenen Arbeit theilt Pflüger indessen mit, dass beim anhaltenden Kochen (24 Stunden lang) von glykogenhaltigen Organen mit 30proc. Kalilauge kein Verlust an Glykogen stattfindet. Arch. f. d. ges. Physiol. **90.** 523. (1902.)

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. **65.** 90. (1896.)
Nerking, Ebendas. **73.** 172. (1898.)

[2]) Ebendas. **75.** 240. (1899.)

[3]) Sitzungsber. d. Wiener Akad. **53.** II. 3. Febr. 1871.

[4]) Zeitschr. f. Biol. **22.** 161. (1886.)

[5]) Arch. f. d. ges. Physiol. **76.** 531. (1899.)

[6]) Ebendas. **81.** 8. (1900.)

Erforderliche Lösungen:
1. 1proc. Kalilauge (durch Titration festgestellt),
2. Jodkalium in Substanz,
3. sehr concentrirte Kalilauge von bekanntem Gehalt,
4. Alkohol von 96 Vol.-pCt.,
5. eine Lösung enthaltend 100 ccm 3proc. Kalilauge, 10 g Jodkalium und 50 ccm Alkohol von 96 Vol.-pCt.,
6. Alkohol von 66 Vol.-pCt., der im Liter etwa 0,08 g Kochsalz enthält,
7. 2,2proc. Salzsäure,
8. die in § 555 aufgeführten Erfordernisse.

Ausführung. Unmittelbar nachdem das Thier getödtet, nimmt man das Organ heraus, zerkleinert es mit möglichster Schnelligkeit durch Hackmesser oder Hackmaschine, wägt von dem Brei auf einer Wage, die 0,1 g anzeigt, 100 g*) ab und bringt sie sofort in kleinen Portionen unter fortwährendem Rühren in 400 ccm der 1proc. Kalilauge, welche vorher schon in einem etwa 1 Liter fassenden Becherglase zum Sieden erhitzt waren. Die Flüssigkeit soll dabei nicht aus dem Kochen kommen. Nachdem das Erhitzen 10 Minuten fortgesetzt, bringt man das Becherglas, das durch einen am Stativ befindlichen Ring getragen wird, in ein bereits siedendes Wasserbad, bedeckt es mit einem Uhrglas und erhitzt, bis die Substanz bis auf wenige Flocken gelöst ist**). Nach dem Abkühlen bringt man die Lösung in eine Maassflasche, füllt mit Wasser bis auf ein bestimmtes Volumen (500 ccm) auf, mischt, giesst in ein Becherglas aus, bedeckt dasselbe und wartet einige Stunden, bis die stets vorhandenen Flocken sich möglichst abgesetzt haben. Jetzt filtrirt man, misst von dem klaren Filtrat genau 100 ccm***) in ein Becherglas ab, fügt zunächst 10 g Jodkalium, dann von der Kalilauge (3) so viel hinzu, dass unter Berücksichtigung des in den 100 ccm bereits enthaltenen Aetzkalis die Lösung 3 pCt. KOH enthält, und schliesslich 50 ccm Alkohol (4). Nachdem der Glykogenniederschlag sich abgesetzt hat, filtrirt man ihn in einem Zuge, indem man zum Ausspülen der letzten Reste Glykogen aus dem Becherglase das Filtrat benutzt und durch Auflegen eines Uhrglases dafür sorgt, dass möglichst wenig Alkohol verdunstet, wäscht zweimal mit Lösung 5 unter möglichster Vermeidung der Verdunstung des Alkohols vom Filter und dann zweimal mit dem kochsalzhaltigen Alkohol (6). (Zur Feststellung der völligen Ausfällung des Glykogens ist es nöthig, das Filtrat [ohne die Waschflüssigkeit] mit mehr Kali zu versetzen; es muss klar bleiben.) Nachdem der Alkohol

*) Muss man weniger nehmen, so sind die späteren Zahlenangaben entsprechend zu verkleinern.

**) Die dazu nöthige Zeit ist sehr verschieden: bei Fröschen $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde, bei Vögeln und Säugethieren meist mehrere Stunden, bei alten Säugethieren zuweilen viel länger als 12 Stunden.

***) Nimmt man z. B. bei geringem Glykogengehalt mehr, so sind die folgenden quantitativen Angaben entsprechend zu verändern.

völlig abgetropft, verschliesst man das Trichterrohr, über das ein Gummischlauch gezogen ist, mit einer Klemme, bringt Salzsäure (7) auf das Filter, wartet bis das Glykogen sich fast völlig gelöst hat, öffnet den Quetschhahn und lässt das Filtrat in einen Maasskolben von 300 ccm*) fliessen, schliesst die Klemme wieder, bringt abermals Salzsäure auf das Filter und so fort, bis man sicher ist, dass alles Glykogen gelöst ist (die zuletzt abfliessende Salzsäure muss mit Alkohol versetzt völlig klar bleiben). Man erhitzt jetzt 3 Stunden im siedenden Wasserbade, lässt abkühlen und füllt mit Salzsäure (7) bis auf 300 ccm auf. Ist die Flüssigkeit nicht ganz durchsichtig, so giesst man sie in ein trocknes Becherglas und filtrirt durch ein trocknes Filter in denselben Kolben zurück.

Um nun den aus dem Glykogen entstandenen Zucker zu bestimmen, misst man in ein Becherglas von etwa 300 ccm 30 ccm Allihn'sche Lauge und 30 ccm Kupfersulfatlösung, bringt dazu so viel ccm einer starken Kalilauge als nöthig sind, um 80 ccm obiger Zuckerlösung zu neutralisiren, darauf 80 ccm**) der Zuckerlösung, zuletzt so viel Wasser, dass das Gesammtvolumen genau 145 ccm beträgt und verfährt weiter nach § 555. Durch Multiplication des gefundenen Zuckerwerthes mit 0,927 erfährt man die entsprechende Glykogenmenge. Die weitere Rechnung ist einfach.

Bestimmung der in Proteïden enthaltenen Phosphorsäure nach Kossel[1]).

738. Ungefähr 15 g des Muskelbreies werden abgewogen, in geräumiger Reibschale mit ein wenig Gerbsäurelösung und etwa 10 ccm 5proc. Salzsäure übergossen und gut durchgeknetet. Der Brei wird dann durch ein kleines, aschefreies Filter filtrirt, mit viel verdünnter Salzsäure, dann mit siedendem Alkohol und zuletzt mit Aether extrahirt u. z. so lange, bis die letzten Portionen der einzelnen Extracte nach dem Eindampfen nur ganz schwache Phosphorsäurereaction geben (§ 56). In der extrahirten Masse bestimmt man nach § 448 oder § 447 die Phosphorsäure. Sie entspricht den in den Proteïden enthaltenen.

Bestimmung der Proteïnstoffe, anorganischen Salze, der ätherlöslichen Stoffe in den Muskeln.

739. Man wägt etwa 50 g des Muskelbreies ab und verfährt nach den Angaben, die in § 560 für die Analyse der serösen Flüssigkeiten angegeben worden sind.

Untersuchung der drüsigen Organe.

740. **Bestandtheile.** In den drüsigen Organen finden sich ungefähr dieselben Bestandtheile wie in den Muskeln. Es sind vorhanden lösliche

*) Bei geringem Glykogengehalt event. einen kleineren.

**) Ist zu erwarten, dass der Glykogengehalt des untersuchten Organs 4 pCt. übersteigt, so nimmt man weniger von der Zuckerlösung.

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 7. 9. (1883.)

Eiweissstoffe (z. B. Thyreoglobulin in der Schilddrüse), Nucleoproteïde (u. z. in reichlicherer Menge als die Eiweissstoffe), Mucin (in der Submaxillar- und Sublingualdrüse), Nucleïnbasen, Harnstoff, Kreatin, Kreatinin, Harnsäure, Taurin, Glykogen, Traubenzucker, Milchsäure, Bernsteinsäure, Aminovaleriansäure, Leucin, Cystin, flüchtige Fettsäuren, Seifen, Fett, Lecithin, Jecorin, Cholesterin, Inosit, anorganische Bestandtheile (dieselben wie beim Muskel), unter pathologischen Verhältnissen auch Tyrosin und Asparaginsäure[1]) (Leber). Ferner enthalten die Organe Fermente, von denen besonders das diastatische und proteolytische weit verbreitet sind.

741. **Untersuchung.** Dieselbe geschieht in qualitativer und quantitativer Beziehung durchaus nach den für die Muskeln gemachten Angaben; über die in den Muskeln nicht nachgewiesenen Organbestandtheile siehe §§ 742—744. In Betreff der Untersuchung auf Proteïnstoffe, welche ebenfalls nach § 725 ausgeführt wird, ist zu bemerken, dass die Trennung der einzelnen Eiweissstoffe in dem Wasser- und Salmiakauszug auch durch fractionirte Coagulation und ausserdem durch fractionirte Sättigung mit Magnesiumsulfat und mit Natriumchlorid erreicht wird. Ausser Eiweissstoffen geht auch ein Theil des Nucleoproteïds schon in die neutralen Auszüge über. Durch Essigsäure wird es gefällt.

Nachweis und Isolirung verschiedener Organbestandtheile.

742. **Leucin** und **Tyrosin.** Der Organbrei wird in der mindestens dreifachen Menge absoluten Alkohols vertheilt und auf dem Wasserbade unter häufigem Umschütteln bis zum beginnenden Sieden des Alkohols erhitzt. Man lässt einige Stunden zum Erkalten stehen, filtrirt ab, wäscht den Rückstand mit Alkohol aus, dampft das Filtrat zur Entfernung des Alkohols ein und verfährt weiter nach § 557.

743. **Andere Bestandtheile.** Ueber die Darstellung des Thyreoglobulins aus der Schilddrüse siehe § 317, über die Darstellung der Nucleoproteïde aus den einzelnen Organen siehe § 370 ff., über die Darstellung des Mucins aus den Speicheldrüsen siehe § 391, über die Isolirung und den Nachweis der Fermente siehe § 408ff. Bernsteinsäure wird nach § 76, Jecorin nach § 140 isolirt und nachgewiesen.

Bestimmung der beim Kochen mit verdünnten Säuren aus den Organen erhaltenen Harnsäure[2]).

744. 50—500 g vom Organbrei werden in grossen Kolben mit 2 Litern Wasser und 10 ccm conc. Schwefelsäure 12 Stunden lang so erhitzt, dass die Flüssigkeit niemals ins Sieden kommt. Die Flüssigkeit wird nach

[1]) Taylor, Zeitschr. f. physiol. Chem. **34**. 580. (1902.)

[2]) Stadthagen, Arch. f. pathol. Anat. **109**. 390. (1887.)
His d. J. u. W. Hagen, Zeitschr. f. physiol. Chem. **30**. 350. (1900.) Dieser letzteren Arbeit ist die obige Beschreibung entnommen.

12stündigem Stehen durch grosse Faltenfilter abfiltrirt und der Rückstand noch zweimal mit Schwefelsäure von 0,5 Vol.-Procent je 2—3 Stunden in der Wärme extrahirt. Die vereinigten Filtrate werden mit so viel Barythydrat versetzt, als der zugesetzten Schwefelsäure entspricht. (Da etwas Schwefelsäure im ausgefällten Eiweiss zurückgehalten wird, so kommt auf diese Weise ein geringer Ueberschuss von Baryt in die Lösung. Dieser geringe Ueberschuss schadet nicht.) Das Bariumsulfat setzt sich bei gelinder Wärme in einigen Stunden gut ab. Man filtrirt, fügt zu dem Filtrat Lithiumcarbonat bis zur neutralen Reaction und neutralisirt, während der Niederschlag sich absetzt, von Zeit zu Zeit von Neuem mit Essigsäure. Das Absitzen erfolgt am besten bei 30—40°. Eine Probe der überstehenden Flüssigkeit darf weder mit Baryt noch mit Lithiumcarbonat eine Trübung geben. Ist dies, event. durch nachträglichen Zusatz, erreicht, so wird filtrirt und mit heissem Wasser mehrfach nachgewaschen. Man dampft das Filtrat ein, filtrirt von ausgeschiedenen Propeptonen ab und fällt die Harnsäure als harnsaure Silbermagnesia aus. Ueber das Weitere siehe § 484 u. Bericht. S. 586.

Untersuchung des Gehirns, des Rückenmarks und der Nerven.

745. **Bestandtheile.** Die Zusammensetzung der Gehirn- und Nervensubstanz weicht sehr von der der übrigen Organe ab. Es finden sich in ihr reichliche Mengen von specifischen, in warmem Alkohol löslichen Gehirnstoffen (§ 185 ff.), deren Trennung und Untersuchung sehr schwierig und sehr wenig vorgeschritten ist, von Cholesterin, Lecithin und anderen in Aether löslichen, aber noch ganz ungenügend bekannten Stoffen, ferner Eiweissstoffe, Nucleoproteïde, Neurokeratin, in Wasser lösliche Extractivstoffe (Milchsäure, Kreatin, Harnstoff, Harnsäure, Nucleïnbasen, Cholin, Inosit), anorganische Salze (Kalium, Natrium, Calcium, Magnesium, gebunden an Salzsäure, Phosphorsäure, Kohlensäure und sehr wenig Schwefelsäure).

Isolirung und Nachweis der anorganischen Salze im Gehirn u. s. w.

746. Directe Verkohlung und Veraschung führen zu Aschen, in denen wohl Kalium, Natrium, Calcium und Magnesium, aber keine Säuren bestimmt werden können, weil die sehr reichlich in organischer Bindung enthaltene Phosphorsäure die übrigen Säuren austreibt und sogar pyrophosphorsaures Salz liefert. Es ist deswegen in folgender Weise zu verfahren: Man extrahirt den Gehirnbrei mit 80proc. Alkohol, filtrirt (alkoholischer Auszug), erschöpft ihn darauf nacheinander mit Aether, warmem 85proc. Alkohol und warmem, Benzol oder Chloroform enthaltendem Alkohol und kocht ihn schliesslich mit Wasser (wässriger Auszug) aus. In dem so erhaltenen alkoholischen (1) und wässrigen Auszug (2) finden sich die wasserlöslichen, in dem in allen angewandten Lösungsmitteln unlöslichen Rückstand (3) die wasserunlöslichen Salze.

Der alkoholische Auszug (1) wird vorsichtig im Vacuum verdunstet, der Rückstand zur Entfernung von Lecithin mit Aether ausgezogen und darauf mit Wasser aufgenommen. Man filtrirt, vereinigt das Filtrat mit dem wässrigen Auszug (2), dampft ein, verascht und untersucht die wässrige Aschelösung nach § 431. Lässt sich die Flüssigkeit nicht filtriren, so muss sie nach Vereinigung mit dem wässrigen Auszug direct eingedampft und verascht werden. Wasserlösliche Salze.

Der Rückstand (3), welcher ausser Calcium- und Magnesiumphosphat auch coagulirte Eiweissstoffe, Neurokeratin, Nucleoproteïd u. a. enthält, wird zur Entfernung des Proteïds mit 0,5 proc. Ammoniak extrahirt und in einer Platinschale verbrannt. In der salzsauren Lösung der Asche lassen sich Calcium, Magnesium und Phosphorsäure nach § 432 nachweisen. Calcium- und Magnesiumphosphat.

Isolirung und Nachweis der wasserlöslichen Substanzen im Gehirn u. s. w.

747. Man verrührt den Gehirnbrei mit viel Wasser zu einer feinen Emulsion, fügt Natriumsulfatlösung bis zur Abscheidung feiner Flocken hinzu und filtrirt. Ist die Flüssigkeit trübe, so kann man versuchen, sie durch Schütteln mit Aether im Scheidetrichter und Filtriren nach Trennung beider Schichten zu klären.

Eiweissstoffe erkennt man durch Coagulation beim Kochen; man kann sie durch ihre verschiedenen Gerinnungstemperaturen und ihr verschiedenes Verhalten beim Aussalzen von einander trennen (vergl. § 725 u. § 741). Eiweissstoffe.

Nucleoproteïd[1]) fällt auf Zusatz von Essigsäure und wird nach § 543, 1 b als solches identificirt. Eine weitere Menge Nucleoproteïd lässt sich durch längere Extraction des Filterrückstandes mit 0,5 proc. Ammoniakflüssigkeit und Fällen des Filtrats mit Essigsäure erhalten. Nucleoproteïd.

Milchsäure wird nach § 73, Harnstoff nach § 109, Kreatin nach § 116, Harnsäure nach § 552, Inosit nach § 192 isolirt und nachgewiesen. Ueber die Gewinnung von Milchsäure, Kreatin, Nucleïnbasen, Inosit siehe auch § 727.

Ueber die Isolirung von Cholin aus dem mit schwach salzsaurem Wasser bei einer Temperatur unter 70° hergestellten Auszug des Gehirnbreies siehe Gulewitsch[2]).

Isolirung der alkohol- und ätherlöslichen Stoffe im Gehirn u. s. w.

748. **Specifische Gehirnstoffe.** Vergl. die §§ 185—187, ferner auch die neuere Arbeit von Thudichum[3]) und von Bethe[4]).

749. **Aetherlösliche Stoffe.** Man entwässert den Gehirnbrei durch Zerreiben, Schütteln und Waschen mit 80 proc. Alkohol und extrahirt ihn darauf

---

[1]) Levene, Arch. of Neurol. and Psychopath. **2.** 1. (1899.)
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **27.** 63. (1899.)
[3]) Die chem. Constitution des Gehirns d. Menschen u. d. Thiere. Tübingen 1901.
[4]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **48.** 73. (1902.)

wiederholt mit Aether. Die ätherische Lösung wird auf 0° abgekühlt und von den dabei entstehenden Ausscheidungen, welche in die Gruppe der in den § 185 ff. besprochenen Substanzen gehören, abfiltrirt. Das Filtrat, welches Cholesterin, Lecithin und andere noch ungenügend bekannte Stoffe enthält, wird verdunstet. Zur Isolirung des Cholesterins verseift man den Rückstand nach § 89 und zieht die Seifenlösung mit Aether aus. Beim Verdunsten des Aethers hinterbleibt Cholesterin. Zur Isolirung der Spaltungsproducte des Lecithins (Cholin, Glycerinphosphorsäure, Fettsäuren) kocht man den Rückstand eine Stunde mit gesättigtem Barytwasser und verfährt weiter, wie es § 139 und § 141 angegeben ist.

Cholesterin.

Lecithin.

Isolirung des Neurokeratins[1]) im Gehirn u. s. w.

750. Man unterwirft den nach § 746 erhaltenen Rückstand mehrere Tage lang nacheinander der Pepsin- und der Trypsinverdauung, kocht $^1/_2$ Stunde mit 5proc. Sodalösung, filtrirt, wäscht mit Wasser und lässt zur Auflösung des Nucleïns 48 Stunden in 0,5proc. Kalilauge stehen. Nach dem Decantiren, Filtriren und Auswaschen mit Wasser wird der Brei wiederholt mit Alkohol unter Zusatz von etwas Eisessig ausgekocht, nochmals mit 5proc. Kalilauge 2 Tage lang behandelt und dann mit Wasser, Essigsäure, Wasser, Alkohol und Aether gewaschen. Es gelingt indessen nicht, jede Spur fettiger Substanzen auf diese Weise zu entfernen. Ueber das Neurokeratin siehe § 339.

Bestimmung des Trockenrückstandes, des Gesammtstickstoffs, der anorganischen Salze und anderer Stoffe im Gehirn u. s. w.

751. **Trockenrückstand.** Man bringt den Gehirnbrei in dünner Schicht in eine gewogene Porzellanschale oder auf ein gewogenes Uhrglas, wägt, übergiesst mit Alkohol, lässt bei mässiger Wärme verdunsten, übergiesst nochmals mit Alkohol und lässt wieder verdunsten. Die auf diese Weise coagulirte Substanz wird jetzt über Schwefelsäure, dann im Luftbade bei unter 60° und zuletzt bei 100° getrocknet.

Es ist zweckmässig in dieser Weise vorzugehen, um zu verhindern, dass ein Eintrocknen der oberflächlichen Schicht stattfindet. Dieselbe lässt dann das Wasser aus dem Innern schwer entweichen. Auch findet beim Erhitzen auf 100°, so lange Wasser vorhanden ist, leicht theilweise Zersetzung statt.

Gesammtstickstoff, einzelne anorganische Bestandtheile. Man bestimmt den Gesammtstickstoff nach Kjeldahl (§ 453 b), die einzelnen Aschebestandtheile nach § 433 ff.

---

[1]) Kühne u. Chittenden, Zeitschr. f. Biol. **26.** 291. (1889.)

Anorganische Salze. Man verfährt nach den § 746 gegebenen Principien unter Benutzung des § 452 Gesagten.

Will man gleichzeitig die aus den Nucleoproteïden stammende Phosphorsäure bestimmen, so mischt man den nach § 746 erhaltenen Rückstand (3) (ohne ihn mit Ammoniak auszuziehen) vor der Veraschung mit reinem (calcium- und magnesiumfreien) kohlen- oder salpetersaurem Baryt. Die Menge Phosphorsäure, welche bei der quantitativen Bestimmung mehr gefunden wird, als dem Calcium und Magnesium entspricht, stammt aus dem Nucleoproteïd. Nucleoproteïd-phosphor.

Galactose. Manche Gehirnstoffe enthalten Galactose in ihrem Molekül. Zur Bestimmung dieser gebund. Galactose wurde von Noll [1]) ein Verfahren angegeben.

Cholesterin. Man behandelt eine abgewogene Menge des Gehirnbreies nach § 749. Da in den dort erwähnten ersten alkoholischen Auszug schon etwas Cholesterin übergegangen ist, so ist derselbe einzuengen, der Rückstand mit Aether zu extrahiren und diese ätherische Lösung mit der andern gemeinsam zu verdunsten und zu verseifen. Die Bestimmung des isolirten Cholesterins geschieht durch Wägung.

Neurokeratin [2]). Etwa 50 g vom Bindegewebe möglichst befreite Gehirn- oder Nervensubstanz werden mit der 5—6fachen Menge künstlichen Magensafts in einem 700—900 ccm fassenden Scheidetrichter unter häufigem Umschütteln 8—14 Tage lang verdaut und darauf mit Aether geschüttelt. Die wässrige Lösung setzt sich fast immer so klar ab, dass man sie ohne Verlust ablassen kann; man fügt Waschflüssigkeit (0,4 proc. Salzsäure) hinzu, schüttelt wieder, lässt die klare, wässrige Flüssigkeit ab und wiederholt das 3—4mal. Ist die Flüssigkeit ausnahmsweise trübe, so filtrirt man sie durch ein gewogenes, bereits in einem später zu heizenden Wärmetrichter befindliches Filter. Durch dieses Filter lässt man dann auch das reichlich mit Alkohol versetzte Magma hindurchgehen. Der Wärmetrichter ist mit einem langen Kautschukschlauch versehen, welcher in ein entfernt stehendes Gefäss führt und eine Klemme trägt. Man schliesst jetzt die Klemme, bringt Alkohol auf den Trichter, erhitzt, lässt nach einiger Zeit den Alkohol abfliessen, bringt neuen darauf und wiederholt das nochmals; dann löscht man die Flamme und erschöpft den noch längere Zeit warmen Filterinhalt mit Aether. Nach dem Abkühlen wird die Masse wenigstens zwei Tage durch 1—2 Liter Natronlauge von 1 pCt., die man nur nach und nach unten abfliessen lässt, vom Nucleïn befreit, dann mit Wasser, verdünnter Salzsäure, wieder mit Wasser, sowohl kaltem wie heissem, endlich wieder mit Alkohol und Aether gewaschen und auf dem Filter erst an der Luft, dann bei 110° getrocknet und gewogen. Das so erhaltene Neurokeratin ist vollständig frei von Myelinstoffen.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **27**. 370. (1899.)

[2]) Kühne u. Chittenden, a. a. O.

Untersuchung von Hornhaut, Linse, Glaskörper, Humor aqueus.

752. **Hornhaut**[1]. Sie ist zusammengesetzt aus der Grundsubstanz, dem Epithellager und der Descemet'schen Haut, welche durch anatomische Präparation von einander zu trennen sind.

Grundsubstanz. Sie enthält von festen Bestandtheilen hauptsächlich Collagen, daneben etwas Mukoïd, anorganische Salze und nur Spuren von Eiweissstoffen. Das Corneamukoïd (§ 398) lässt sich durch verdünntes Alkali extrahiren; das Collagen bleibt dabei zurück und geht nach völliger Entfernung des Alkalis durch Auswaschen beim Kochen mit Wasser als Glutin in Lösung (§ 343).

Epithellager. In ihm finden sich zwei Globuline, von denen das eine wohl mit dem Serumglobulin identisch ist.

Descemet'sche Haut. Sie besteht aus einem Membranin (§ 348).

Linse[2]. Sie ist zusammengesetzt aus der Linsensubstanz und der Linsenkapsel.

Linsensubstanz. Sie enthält ungefähr 36 pCt. Trockenrückstand, welcher zum grössten Theil aus Proteïnstoffen besteht und ausserdem aus etwas ätherlöslicher Substanz (Cholesterin, Lecithin, Fett) und anorganischen Salzen. Beim Zerreiben und Schütteln mit Wasser geht etwa die Hälfte der Proteïnsubstanz in Lösung: α- und β-Krystallin (§ 294) und etwas Albumin. Die unlösliche Hälfte besteht aus Albumoïd (§ 346).

Linsenkapsel. Die Grundlage derselben ist ein Membranin (§ 348).

Glaskörper[3]. Die Häute, welche zurückbleiben, wenn man den mit der Scheere zerschnittenen Glaskörper filtrirt, bestehen aus Collagen (§ 343). Das klare, nicht fadenziehende Filtrat reagirt alkalisch und enthält etwas gerinnbares Eiweiss, eine sehr geringe Menge Mukoïd, ferner etwas Milchsäure, Traubenzucker, Harnstoff und anorganische Salze. Man untersucht die Flüssigkeit nach den für seröse Flüssigkeiten gegebenen Vorschriften (§ 536ff.) Ueber die Darstellung des Hyalomukoïds siehe § 399.

Humor aqueus. Die alkalisch reagirende, klare Flüssigkeit enthält etwas Eiweiss, Milchsäure, Traubenzucker, Harnstoff, anorganische Salze und wird wie eine seröse Flüssigkeit untersucht (§ 536ff.).

---

[1]) C. Th. Mörner, Zeitschr. f. physiol. Chem. **18.** 213. (1894.)
[2]) C. Th. Mörner, Ebendas. **18.** 61. (1894.)
[3]) C. Th. Mörner, Ebendas. **18.** 244. (1894.)

Berichtigungen und Nachträge.

Zu Seite 17. Zeile 11 von unten muss es heissen: Die Tabelle im Anhange giebt die specifischen Gewichte des Wassers für die verschiedenen Temperaturen; bei 21° ist dasselbe 0,998042, bei 12° dagegen 0,999537. Hiernach ist das Gewicht des Wassers, welches bei 12° das Pycnometer füllen würde, $\frac{0,999537}{0,998042} \cdot 24,1080 = 24,144$. Durch dies Gewicht u. s. w. Bestimmung des spec. Gewichts.

Zu Seite 92. α-Phenylglykosazon ist in heissem absol. Alkohol schwer löslich, in heissem verdünntem (60 proc.) leichter. Phenyl-glykosazon.

Zu Seite 168. Serin entsteht auch bei der hydrolytischen Spaltung von Hornsubstanz und wahrscheinlich auch bei der hydrolytischen Spaltung von Leim, Caseïn und anderen Proteïnstoffen (E. Fischer[1]). Serin.

Zu Seite 179 Für die fractionirte Destillation der Aminosäureester haben E. Fischer und Harries[2]) einen Apparat construirt, bei dem man bei einem Destillationsgefäss von 1 Liter Inhalt in etwa 10 Minuten ein Vacuum von 0,2 mm erreicht. fractionirte Destillation der Aminosäureester.

Zu Seite 182. Dem Cysteïn kommt nicht die S. 182 angegebene Constitution zu, sondern die nebenstehende, wie aus den Untersuchungen von E. Friedmann[3]) und C. Neuberg[4]) hervorgeht. Friedmann erhielt aus dem Cysteïn (aus Eiweiss) Taurin, Neuberg aus dem Cysteïn (aus Cystinsteinen) Isäthionsäure. Die Cystinformel verändert sich natürlich entsprechend.

Cysteïn.
CH_2-SH
|
$CH-NH_2$
|
$COOH$

Zu Seite 216. Bei der Hydrolyse des Leims entsteht nach E. Fischer[1]) eine Aminosäure von der Formel $C_5H_9NO_3$, die sehr wahrscheinlich eine Oxypyrrolidin-α-carbonsäure ist. Sie krystallisirt in farblosen Tafeln, zersetzt sich gegen 270° unter Aufschäumen und Bräunung, ist in Wasser sehr leicht, in absol. Alkohol sehr wenig löslich. Das Kupfersalz ist in Wasser Oxypyrrolidin-α-carbonsäure.

---

1) Ber. d. d. chem. Ges. **35.** 2660. (1902.)
2) Ebendas. **35.** 2158. (1902.)
3) Beitr. z. chem. Physiol. u. Path. **2.** 433. (1902.)
4) Ber. d. d. chem. Ges. **35.** 3161. (1902.)

sehr leicht löslich und krystallisirt schwierig, in Alkohol ist es unlöslich. Die Säure wird aus verdünnter saurer Lösung durch Phosphorwolframsäure nicht gefällt und lässt sich auch schwerer als die gewöhnlichen Aminosäuren in Form ihrer Ester gewinnen. Die Phenylisocyanatverbindung $C_{12}H_{14}N_2O_4$ ist in Wasser verhältnissmässig leicht löslich, krystallisirt und schmilzt gegen 175° unter Zersetzung. Die Säure dreht stark links. 9—10proc. wässrige Lösung zeigt $[\alpha]_D^{20^0} = -81{,}04^0$. Bei der Reduction entsteht α-Pyrrolidincarbonsäure.

Bestimmung der Harnsäure nach Salkowski-Ludwig.

Zu Seite 433. 10. Zeile von unten muss es heissen: Man dampft das Filtrat nach Zufügen von Salzsäure auf dem Wasserbade in einer Porzellanschale bis auf wenige Cubikcentimeter ein, lässt bis zum nächsten Tage stehen u. s. w.

Fettbestimmung.

Zu Seite 544. § 671a Schluss muss es heissen: Der Rückstand wird sodann im Exsiccator oder Vacuumexsiccator getrocknet und gewogen.

ANHANG I.

Einige Reagentien.

Almén'sche Lösung. Man löst 4 g Gerbsäure in 8 ccm 25proc. Essigsäure und fügt 190 ccm 40—50proc. Alkohol hinzu.

Brücke's Reagens (Quecksilberkaliumjodidlösung). Man erhitzt eine Lösung, die im Liter 100 g Jodkalium enthält, und trägt so lange Quecksilberjodid ein, als es sich löst. Nach dem Erkalten giesst man von den rothen Krystallen ab und fügt noch einige Krystalle Jodkalium hinzu.

Glyoxylsäurelösung[1]. Man versetzt 1 Liter einer gesättigten Oxalsäurelösung in einem hohen Cylinder mit ungefähr 60 g Natriumamalgam, filtrirt nach Beendigung der Wasserstoffentwickelung und verdünnt mit der zwei- oder dreifachen Menge Wasser.

Magnesiamischung. Man löst 110 g krystallisirtes Magnesiumchlorid und 140 g Ammoniumchlorid in 1300 ccm Wasser, fügt 700 g 10proc. Ammoniakflüssigkeit hinzu, mischt, lässt einige Tage stehen und giesst von einem etwa entstandenen Niederschlage ab.

Millon's Reagens. Man löst Quecksilber in dem doppelten Gewicht einer Salpetersäure von dem spec. Gewicht 1,42 zunächst in der Kälte, dann unter mässigem Erwärmen, fügt das doppelte Volumen Wasser hinzu, lässt einige Stunden stehen und giesst die klare Flüssigkeit vom krystallinischen Niederschlage ab.

O. Nasse[2] empfiehlt eine wässrige Lösung von Quecksilberacetat, die erst zum Gebrauch mit einigen Tropfen einer 1 proc. Kaliumnitritlösung und, falls die Reaction nicht genügend sauer, mit etwas verdünnter Essigsäure versetzt wird.

Molybdaensaures Ammoniak. Man löst 50 g Molybdaensäure in 200 g 10proc. Ammoniakflüssigkeit, vermischt die Lösung mit 750 g Salpetersäure (spec. Gewicht 1,2) und giesst nach mehrtägigem Stehen an einem gelinde warmen Ort von etwa entstandenem Bodensatz ab.

---

[1] Hopkins u. Cole, Journ. of Physiol. **27.** 418. (1902.)

[2] Arch. f. d. ges. Physiol. **83.** 361. (1901.)

Nessler's Reagens. Man löst 50 g Kaliumjodid in etwa 50 ccm heissem destillirtem Wasser und versetzt mit einer conc. heissen Quecksilberchloridlösung, bis der dabei entstehende rothe Niederschlag aufhört sich wieder zu lösen (20—25 g Quecksilberchlorid sind hierzu erforderlich). Man filtrirt, fügt 150 g Aetzkali in 300 ccm Wasser gelöst hinzu, verdünnt auf 1 Liter, fügt noch etwa 5 ccm der Quecksilberchloridlösung hinzu, lässt den Niederschlag sich absetzen und decantirt. Die Lösung ist in kleinen, verschlossenen Gefässen aufzubewahren. Ein später noch auftretender Niederschlag schadet nicht, man giesst von ihm ab.

Phosphorwolframsäure*). Man löst 4 kg reines, möglichst carbonatfreies, wolframsaures Natrium in 4 Liter heissem Wasser, fügt 1 kg krystallisirtes, ammoniakfreies Natriumphosphat hinzu und kocht die Flüssigkeit, bis das Phosphat völlig in Lösung gegangen ist. Die noch warme alkalische Flüssigkeit wird nun mit einem warmen Gemisch von 1 Liter Wasser und 1 Liter engl. Schwefelsäure unter vorsichtigem Zufügen schwach angesäuert und eingedampft, bis an der Oberfläche eine dünne Krystallhaut entsteht, die nach dem Abkühlen nach einiger Zeit wieder verschwindet. Die während 24—36stündigen ruhigen Stehens sich bildende Ausscheidung von Glaubersalzkrystallen wird durchstossen, die syrupöse Flüssigkeit abgegossen und event. von noch ausgeschiedenem Glaubersalz abgeseiht; sie besitzt bei genügender Concentration das spec. Gewicht 1,8—2. Man bringt nun 200—300 ccm dieser öligen Phosphorwolframsäure in einen grossen Scheidetrichter, schichtet das doppelte Volumen Aether darauf und fügt unter jeweiligem gutem Umschütteln gut gekühlte, annähernd 70proc. Schwefelsäure in kleinen Portionen hinzu. Nach einiger Zeit fallen schwere, hellgelbe ölige Tropfen — eine ätherische Lösung von Phosphorwolframsäure — herunter; man lässt dieselben abfliessen und setzt das Ausäthern unter Zusatz von Schwefelsäure so lange fort, bis keine ölige Ausscheidung mehr erfolgt. Die vereinigten ätherischen Lösungen werden nun zweckmässig noch einmal mit Aether unter Wasserzusatz extrahirt. Man destillirt nun den ätherischen Auszug unter Durchleiten eines Dampfstroms (zur Verhinderung des Stossens) ab und leitet in die dunkle, noch warme, von Aether möglichst vollständig befreite Flüssigkeit so lange Chlorgas ein, bis die Farbe hellgelb geworden ist. Nach dem Erkalten krystallisirt ein grosser Theil der Phosphorwolframsäure aus, der Rest wird durch starkes Concentriren der Mutterlauge erhalten. Die zuletzt übrig bleibende Mutterlauge kann bei einer weiteren Darstellung wieder verwerthet werden. Aus 4 kg Wolframat erhält man auf diese Weise 2,3 kg krystallisirte Säure.

Stokes'sche Lösung ist eine frisch hergestellte ammoniakalische Lösung von weinsaurem Eisenoxydul (Ferrosulfat + Weinsäure).

---

*) Verfahren von Drechsel, Ber. d. d. chem. Ges. **20.** 1454. (1887.), in der Modification von Winterstein, Chemiker-Zeitung. 1898. S. 539.

Atomgewichte und Verhältnisszahlen für Analysenberechnung.

Atomgewichte[1]			Verhältnisszahlen für Analysenberechnung	
Aluminium	Al	27,1	Chlorsilber: Chlor	= 1 : 0,247245
Antimon	Sb	120	$AgCl$: Cl	
Arsen	As	75,0	Chlorsilber: Chlorwasserstoff	= 1 : 0,254289
Barium	Ba	137,4	$AgCl$: HCl	
Blei	Pb	206,9	Chlorsilber: Chlornatrium	= 1 : 0,408007
Bor	B	11	$AgCl$: $NaCl$	
Brom	Br	79,96	Schwefelsaurer Baryt: Schwefel . . .	= 1 : 0,137325
Cadmium	Cd	112,4	$BaSO_4$: S	
Calcium	Ca	40,1	Schwefelsaurer Baryt: Schwefelsäure .	= 1 : 0,420115
Chlor	Cl	35,45	$BaSO_4$: H_2SO_4	
Chrom	Cr	52,1	Schwefelsaurer Baryt: Barium . . .	= 1 : 0,588538
Eisen	Fe	55,9	$BaSO_4$: Ba	
Fluor	F	19	Kaliumplatinchlorid: Kalium	= 1 : 0,161177
Gold	Au	197,2	K_2PtCl_6 : K_2	
Jod	J	126,85	Kaliumplatinchlorid: Chlorkalium . .	= 1 : 0,307122
Kalium	K	39,15	K_2PtCl_6 : $2\,KCl$	
Kobalt	Co	59,0	Ammoniumplatinchlorid: Ammoniak. .	= 1 : 0,076951
Kohlenstoff	C	12,00	$(NH_4)_2PtCl_6$: $2\,NH_3$	
Kupfer	Cu	63,6	Platin: Ammoniak	= 1 : 0,175257
Lithium	Li	7,03	Pt : $2\,NH_3$	
Magnesium	Mg	24,36	Chlornatrium: Natrium	= 1 : 0,394017
Mangan	Mn	55,0	$NaCl$: Na	
Molybdaen	Mo	96,0	Kohlensaurer Kalk: Calcium	= 1 : 0,400599
Natrium	Na	23,05	$CaCO_3$: Ca	
Nickel	Ni	58,7	Calciumoxyd: Calcium	= 1 : 0,714795
Phosphor	P	31,0	CaO : Ca	
Platin	Pt	194,8	Kohlensäure: Kohlensaurer Kalk . . .	= 1 : 2,2750
Quecksilber	Hg	200,3	CO_2 : $CaCO_3$	
Sauerstoff	O	16,00	Pyrophosphorsaure Magnesia: Magnesium	= 1 : 0,218750
Schwefel	S	32,06	$Mg_2P_2O_7$: Mg_2	
Silber	Ag	107,93	Pyrophosphors. Magnesia: Phosphorsäure	= 1 : 0,63757
Silicium	Si	28,4	$Mg_2P_2O_7$: P_2O_5	
Stickstoff	N	14,04	Phosphorsaur. Eisenoxyd: Phosphorsäure	= 1 : 0,47051
Strontium	Sr	87,6	$2\,FePO_4$: P_2O_5	
Uran	U	239,5	Phosphorsaures Eisenoxyd: Eisen . .	= 1 : 0,370444
Wasserstoff	H	1,01	$FePO_4$: Fe	
Wismuth	Bi	208,5	Eisenoxyd: Eisen	= 1 : 0,699625
Wolfram	W	184	Fe_2O_3 : $2\,Fe$	
Zink	Zn	65,4	Mangansulfür: Mangan	= 1 : 0,631748
Zinn	Sn	118,5	MnS : Mn	

[1]) Aus der Tabelle der internationalen Atomgewichte für 1902. Ber. d. d. chem. Ges. 35. No. 1.

Tabellen der specifischen Gewichte.

Ammoniak bei 15°		Kalilauge bei 15°			Natronlauge bei 15°		
spec. Gewicht	100 g enthalten NH_3	spec. Gewicht	100 g enthalten K_2O	KOH	spec. Gewicht	100 g enthalten Na_2O	NaOH
0,980	4,80	1,007	0,7	0,9	1,007	0,47	0,61
0,978	5,30	1,014	1,4	1,7	1,014	0,93	1,20
0,976	5,80	1,022	2,2	2,6	1,022	1,15	2,00
0,974	6,30	1,029	2,9	3,5	1,029	2,10	2,71
0,972	6,80	1,037	3,8	4,5	1,036	2,60	3,35
0,970	7,31	1,045	4,7	5,6	1,045	3,10	4,00
0,968	7,82	1,052	5,4	6,4	1,052	3,60	4,64
0,966	8,33	1,060	6,2	7,4	1,060	4,10	5,29
0,964	8,84	1,067	6,9	8,2	1,067	4,55	5,87
0,962	9,35	1,075	7,7	9,2	1,075	5,08	6,55
0,960	9,91	1,083	8,5	10,1	1,083	5,67	7,31
0,958	10,47	1,091	9,2	10,9	1,091	6,20	8,00
0,956	11,03	1,100	10,1	12,0	1,100	6,73	8,68
0,954	11,60	1,108	10,8	12,9	1,108	7,30	9,42
0,952	12,17	1,116	11,6	13,8	1,116	7,80	10,06
0,950	12,74	1,125	12,4	14,8	1,125	8,50	10,97
0,948	13,31	1,134	13,2	15,7	1,134	9,18	11,84
0,946	13,88	1,142	13,9	16,5	1,142	9,80	12,64
0,944	14,46	1,152	14,8	17,6	1,152	10,50	13,55
0,942	15,04	1,162	15,6	18,6	1,162	11,14	14,37
0,940	15,63	1,171	16,4	19,5	1,171	11,73	15,13
0,938	16,22	1,180	17,2	20,5	1,180	12,33	15,91
0,936	16,82	1,190	18,0	21,4	1,190	13,00	16,77
0,934	17,42	1,200	18,8	22,4	1,200	13,70	17,67
0,932	18,03	1,210	19,6	23,3	1,210	14,40	18,58
0,930	18,64	1,220	20,3	24,2	1,220	15,18	19,58
0,928	19,25	1,231	21,1	25,1	1,231	15,96	20,59
0,926	19,87	1,241	21,9	26,1	1,241	16,76	21,42
0,924	20,49	1,252	22,7	27,0	1,252	17,55	22,64
0,922	21,12	1,263	23,5	28,0	1,263	18,35	23,67
0,920	21,75	1,274	24,2	28,9	1,274	19,23	24,81
0,918	22,39	1,285	25,0	29,8	1,285	20,00	25,80
0,916	23,03	1,297	25,8	30,7	1,297	20,80	26,83
0,914	23,68	1,308	26,7	31,8	1,308	21,55	27,80
0,912	24,33	1,320	27,5	32,7	1,320	22,35	28,83
0,910	24,99	1,332	28,3	33,7	1,332	23,20	29,93
0,908	25,65	1,345	29,3	34,9	1,345	24,20	31,22
0,906	26,31	1,357	30,2	35,9	1,357	25,17	32,47
0,904	26,98	1,370	31,0	36,9	1,370	26,12	33,69
0,902	27,65	1,383	31,8	37,8	1,383	27,10	34,96
0,900	28,33	1,397	32,7	38,9	1,397	28,10	36,25
0,898	29,01	1,410	33,5	39,9	1,410	29,05	37,47
0,896	29,69	1,424	34,4	40,9	1,424	30,08	38,80
0,894	30,37	1,438	35,4	42,1	1,438	31,00	39,99
0,892	31,05	1,453	36,5	43,4	1,453	32,10	41,41
0,890	31,75	1,468	37,5	44,6	1,468	33,20	42,83
0,888	32,50	1,483	38,5	45,8	1,483	34,40	44,38
0,886	33,25	1,498	39,6	47,1	1,498	35,70	46,15
		1,514	40,6	48,3	1,514	36,90	47,60
		1,530	41,5	49,4	1,530	38,00	49,02
		1,546	42,5	50,6			
		1,563	43,6	51,9			
		1,580	44,7	53,2			

Tabellen der specifischen Gewichte.

Salzsäure bei 15°

spec. Gewicht	100 g enthalten HCl
1,010	2,14
1,015	3,12
1,020	4,13
1,025	5,15
1,030	6,15
1,035	7,15
1,040	8,16
1,045	9,16
1,050	10,17
1,055	11,18
1,060	12,19
1,065	13,19
1,070	14,17
1,075	15,16
1,080	16,15
1,085	17,13
1,090	18,11
1,095	19.06
1,100	20,01
1,105	20,97
1,110	21,92
1,115	22,86
1,120	23,82
1,125	24,78
1,130	25,75
1,135	26,70
1,140	27,66
1,1425	28,14
1,145	28,61
1,150	29,57
1,152	29,95
1,155	30,55
1,160	31,52
1,163	32,10
1,165	32,49
1,170	33,46
1,171	33,65
1,175	34,42
1,180	35,39
1,185	36,31
1,190	37,23
1,195	38,16
1,200	39,11

Salpetersäure bei 15°

spec. Gewicht	100 g enthalten HNO_3
1,020	3,70
1,030	5,50
1,040	7,26
1,050	8,99
1,060	10,68
1,070	12,33
1,085	14,74
1,100	17,11
1,115	19,45
1,130	21,77
1,145	24,08
1,160	26,36
1,175	28,63
1,190	30,88
1,205	33,09
1,220	35,28
1,235	37,53
1,250	39,82
1,265	42,10
1,280	44,41
1,295	46,72
1,310	49,07
1,325	51,53
1,340	54,07
1,355	56,66
1,370	59,39
1,385	62,24
1,400	65,30
1,415	68,63
1,430	72,17
1.445	75,98
1,460	79.98
1,475	84,45
1,490	89,60

Alkohol bei 15,6°

spec. Gewicht	Volum-pCt. (Tralles)	Gewichts-pCt.
0,9335	50	42,52
0.9315	51	43,47
0,9295	52	44,42
0,9255	53	45,36
0,9254	54	46,32
0,9234	55	47,29
0,9213	56	48,26
0.9192	57	49,23
0,9170	58	50,21
0,9148	59	51,20
0,9126	60	52,20
0,9104	61	53,20
0.9082	62	54,21
0,9059	63	55,21
0,9036	64	56,22
0,9013	65	57,20
0,8989	66	58,27
0,8965	67	59,32
0,8941	68	60,38
0,8917	69	61,42
0,8892	70	62.50
0,8867	71	63,58
0,8842	72	64,66
0,8817	73	65,74
0,8791	74	66,83
0,8765	75	67,93
0.8739	76	69,05
0,8712	77	70.18
0,8685	78	71,31
0,8658	79	72,45
0,8631	80	73,59
0,8603	81	74,74
0,8575	82	75,91
0,8547	83	77,09
0,8518	84	78.29
0,8488	85	79,50
0,8458	86	80,71
0,8428	87	81,94
0,8397	88	83,19
0,8365	89	84,46
0,8332	90	85,75
0,8299	91	87,00
0,8265	92	88,37
0,8230	93	89,71
0,8194	94	91,07
0,8157	95	92,46
0,8118	96	93,89
0,8077	97	95,34
0,8034	98	96,84
0,7988	99	98,39
0,7939	100	100

Zu Seite 17, § 23.

Volumen und Dichte des Wassers
(bezogen auf Vol. u. Dichte bei 4°).

Grad	Volumen	Dichte	Grad	Volumen	Dichte
0	1,000127	0,999874	20	1,001751	0,998252
1	071	930	21	962	042
2	030	970	22	1,002184	0,997821
3	007	993	23	416	590
4	000	1,000000	24	658	349
5	008	0,999992	25	911	098
6	030	970	26	1,003173	0,996837
7	068	932	27	445	567
8	119	881	28	726	288
9	185	815	29	1,004016	001
10	265	736	30	314	0,995705
11	358	643	31	621	401
12	464	537	32	937	087
13	583	418	33	1,005262	0,994765
14	714	287	34	595	436
15	857	143	35	936	098
16	1,001013	0,998988	36	1,00632	0,99372
17	181	821	37	667	337
18	360	642	38	702	303
19	550	452	39	737	268

Zu Seite 480, § 555.

Tabelle über die den gefundenen Kupfermengen entsprechenden Traubenzuckermengen nach E. Pflüger.

mg Zucker	mg Kupfer	0,1 mg Zucker entsprech. mg Kupfer	mg Zucker	mg Kupfer	0,1 mg Zucker entsprech. mg Kupfer	mg Zucker	mg Kupfer	0,1 mg Zucker entsprech. mg Kupfer
12	32,8	0,21064	35	80,4	0,2028	58	127,1	0,204
13	34,9	„	36	82,4	„	59	129,2	„
14	37,0	„	37	84,4	„	60	131,2	„
15	39,1	„	38	86,5	„	61	133,2	„
16	41,2	„	39	88,5	„	62	135,3	„
17	43,3	„	40	90,5	„	63	137,3	„
18	45,4	„	41	92,6	„	64	139,4	„
19	47,5	„	42	94,6	„	65	141,4	„
20	49,6	„	43	96,6	„	66	143,4	„
21	51,7	„	44	98,6	„	67	145,5	„
22	53,8	„	45	100,7	„	68	147,5	„
23	55,9	„	46	102,7	„	69	149,6	„
24	58,0	„	47	104,7	„	70	151,6	„
25	60,1	„	48	106,7	„	71	153,6	„
26	62,1	0,2028	49	108,8	„	72	155,7	„
27	64,2	„	50	110,8	„	73	157,7	„
28	66,2	„	51	112,8	0,204	74	159,8	„
29	68,2	„	52	114,9	„	75	161,8	„
30	70,2	„	53	116,9	„	76	163,8	0,202
31	72,3	„	54	119,0	„	77	165,8	„
32	74,3	„	55	121,0	„	78	167,9	„
36	76,3	„	56	123,0	„	79	169,9	„
34	78,4	„	57	125,1	„	80	171,9	„

mg Zucker	mg Kupfer	0,1 mg Zucker entsprech. mg Kupfer	mg Zucker	mg Kupfer	0,1 mg Zucker entspreeh. mg Kupfer	mg Zucker	mg Kupfer	0,1 mg Zucker entsprech. mg Kupfer
81	173,9	0,202	138	286,3	0,1884	195	386,2	0,1664
82	175,9	"	139	288,2	"	196	387,8	"
83	178,0	"	140	290,1	"	197	389,5	"
84	180,0	"	141	291,9	"	198	391,2	"
85	182,0	"	142	293,8	"	199	392,8	"
86	184,0	"	143	295,7	"	200	394,5	"
87	186,0	"	144	297,6	"	201	396,1	0,1572
88	188,1	"	145	299,5	"	202	397,6	"
89	190,1	"	146	301,4	"	203	399,2	"
90	192,1	"	147	303,2	"	204	400,8	"
91	194,1	"	148	305,1	"	205	402.4	"
92	196,1	"	149	307,0	"	206	403,9	"
93	198,2	"	150	308,9	"	207	405,5	"
94	200,2	"	151	310,7	0,176	208	407,1	"
95	202,2	"	152	312,4	"	209	408,6	"
96	204.2	"	153	314,2	"	210	410,2	"
97	206,2	"	154	315,9	"	211	411,8	"
98	208,3	"	155	317,7	"	212	413,4	"
99	210,3	"	156	319,5	"	213	414,9	"
100	212,3	"	157	321,2	"	214	416,5	"
101	214,3	0,198	158	323,0	"	215	418,1	"
102	216,3	"	159	324,7	"	216	419,7	"
103	218,2	"	160	326,5	"	217	421,2	"
104	220,2	"	161	328,3	"	218	422,8	"
105	222,2	"	162	330,0	"	219	424,4	"
106	224,2	"	163	331,8	"	220	425,9	"
107	226,2	"	164	333,5	"	221	427,5	"
108	228,1	"	165	335,3	"	222	429,1	"
109	230,1	"	166	337,1	"	223	430,7	"
110	232,1	"	167	338,8	"	224	432,2	"
111	234,1	"	168	340,6	"	225	433,8	"
112	236,1	"	169	342,3	"	226	435,3	0,146
113	238,0	"	170	344,1	"	227	436,7	"
114	240,0	"	171	345,9	"	228	438,1	"
115	242,0	"	172	347,6	"	229	439,6	"
116	244,0	"	173	349,4	"	230	441,1	"
117	246,0	"	174	351,1	"	231	442,6	"
118	248,0	"	175	352,9	"	232	444,0	"
119	250.0	"	176	354,6	0,1664	233	445,5	"
120	252,0	"	177	356,2	"	234	446,9	"
121	253,9	"	178	357,9	"	235	448,4	"
122	255,9	"	179	359,6	"	236	449,9	"
123	257,8	"	180	361,2	"	237	451,3	"
124	259,8	"	181	362,9	"	238	452,8	"
125	261,8	"	182	364,5	"	239	454,2	"
126	263,7	0,1884	183	366,2	"	240	455,7	"
127	265,6	"	184	367,9	"	241	457,2	"
128	267,5	"	185	369,5	"	242	458,6	"
129	269,3	"	186	371,2	"	243	460,1	"
130	271,2	"	187	372,9	"	244	461,5	"
131	273,1	"	188	374,5	"	245	463,0	"
132	275.0	"	189	376,2	"	246	464.5	"
133	276,9	"	190	377,9	"	247	465,9	"
134	278,8	"	191	379.5	"	248	467,4	"
135	280,6	"	192	381,2	"	249	468,8	"
136	282,5	"	193	382,9	"	250	470,3	"
137	284,4	"	194	384,5	"			

Zu Seite 545, § 671 c.

Tabelle über die dem gefundenen specifischen Gewicht der Aetherfettlösung entsprechende Fettmenge nach Soxhlet.

Spec. Gewicht	Fett pCt.	Spec. Gewicht	Fett pCt.	Spec. Gewicht	Fett pCt.	Spec. Gewicht	Fett pCt.	Spec. Gewicht	Fett pCt.
21		**26**	0,46	**31**	0,92	**36**	1,37	**41**	1,87
1	0,00	1	0,47	1	0,93	1	1,38	1	1,88
2	0,01	2	0,48	2	0,94	2	1,39	2	1,89
3	0,02	3	0,49	3	0,95	3	1,40	3	1,90
4	0,03	4	0,50	4	0,95	4	1,41	4	1,91
5	0,04	5	0,50	5	0,96	5	1,42	5	1,92
6	0,05	6	0,51	6	0,97	6	1,43	6	1,93
7	0,06	7	0,52	7	0,98	7	1,44	7	1,94
8	0,07	8	0,53	8	0,99	8	1,45	8	1,95
9	0,08	9	0,54	9	1,00	9	1,46	9	1,96
22	0,09	**27**	0,55	**32**	1,01	**37**	1,47	**42**	1,97
1	0,10	1	0,56	1	1,02	1	1,48	1	1,98
2	0,11	2	0,57	2	1,03	2	1,49	2	1,99
3	0,12	3	0,58	3	1,04	3	1,50	3	2,00
4	0,13	4	0,59	4	1,05	4	1,51	4	2.01
5	0,14	5	0,60	5	1,05	5	1,52	5	2,02
6	0,15	6	0,60	6	1,06	6	1,53	6	2,03
7	0,16	7	0,61	7	1,07	7	1,54	7	2,04
8	0,17	8	0,62	8	1,08	8	1,55	8	2,05
9	0,18	9	0,63	9	1,09	9	1,56	9	2,06
23	0,19	**28**	0,64	**33**	1,10	**38**	1,57	**43**	2,07
1	0,20	1	0,65	1	1,11	1	1,58	1	2,08
2	0,21	2	0,66	2	1,12	2	1,59	2	2,09
3	0,22	3	0,67	3	1,13	3	1,60	3	2,10
4	0,23	4	0,68	4	1,14	4	1,61	4	2,11
5	0,24	5	0,69	5	1,15	5	1,62	5	2,12
6	0,25	6	0,70	6	1,15	6	1,63	6	2,13
7	0,25	7	0,71	7	1,16	7	1,64	7	2,14
8	0,26	8	0,72	8	1,17	8	1,65	8	2,16
9	0,27	9	0,73	9	1,18	9	1,66	9	2.17
24	0,28	**29**	0,74	**34**	1,19	**39**	1,67	**44**	2,18
1	0,29	1	0,75	1	1,20	1	1,68	1	2,19
2	0,30	2	0,76	2	1,21	2	1,69	2	2.20
3	0,30	3	0,77	3	1,22	3	1,70	3	2,22
4	0,31	4	0,78	4	1,23	4	1,71	4	2,23
5	0,32	5	0,79	5	1,24	5	1,72	5	2,24
6	0,33	6	0,80	6	1,24	6	1,73	6	2,25
7	0,34	7	0,80	7	1,25	7	1,74	7	2,26
8	0,35	8	0,81	8	1.26	8	1,75	8	2,27
9	0,36	9	0,82	9	1,27	9	1,76	9	2,28
25	0,37	**30**	0,83	**35**	1,28	**40**	1.77	**45**	2,30
1	0,38	1	0,84	1	1,29	1	1,78	1	2,31
2	0,39	2	0,85	2	1,30	2	1,79	2	2,32
3	0,40	3	0,86	3	1,31	3	1,80	2	2,33
4	0,40	4	0,87	4	1,32	4	1,81	4	2,34
5	0,41	5	0,88	5	1,33	5	1,82	5	2,35
6	0,42	6	0,88	6	1,33	6	1,83	6	2,36
7	0,43	7	0,89	7	1,34	7	1,84	7	2,37
8	0,44	8	0,90	8	1,35	8	1,85	8	2,38
9	0,45	9	0,91	9	1,36	9	1,86	9	2,39

Spec. Gewicht	Fett pCt.	Spec. Gewicht	Fett pCt.	Spec. Gewicht	Fett pCt.	Spec. Gewicht	Fett pCt.	Spec. Gewicht	Fett pCt.
46	2,40	**50**	2,88	**54**	3,37	**58**	3,90	**62**	4,47
1	2,42	1	2,90	1	3,38	1	3,91	1	4,48
2	2,43	2	2,91	2	3,39	2	3,92	2	4,50
3	2,44	3	2,92	3	3,40	3	3,93	3	4,52
4	2,45	4	2,93	4	3,41	4	3,95	4	4,53
5	2,46	5	2,94	5	3,43	5	3,96	5	4,55
6	2,47	6	2,96	6	3,45	6	3,98	6	4,56
7	2,49	7	2,97	7	3.46	7	3,99	7	4,58
8	2,50	8	2,98	8	3,47	8	4,01	8	4.59
9	2,51	9	2,99	9	3,48	9	4,02	9	4,61
47	2,52	**51**	3,00	**55**	3,49	**59**	4,03	**63**	4,63
1	2,54	1	3,01	1	3,51	1	4,04	1	4.64
2	2,55	2	3,03	2	3,52	2	4,06	2	4,66
3	2,56	3	3,04	3	3,53	3	4,07	3	4,67
4	2,57	4	3,05	4	3,55	4	4,09	4	4,69
5	2,58	5	3,06	5	2,56	5	4,11	5	4,70
6	2,60	6	3,08	6	3,57	6	4,12	6	4.71
7	2,61	7	3,09	7	3,59	7	4,14	7	4,73
8	2,62	8	3,10	8	3,60	8	4,15	8	4,75
9	2,63	9	3,11	9	3,61	9	4,16	9	4,77
48	2,64	**52**	3,12	**56**	3.63	**60**	4,18	**64**	4,79
1	2,66	1	3,14	1	3,64	1	4.19	1	4,80
2	2,67	2	3,15	2	3,65	2	4,20	2	4,82
3	2,68	3	3,16	3	3,67	3	4,21	3	4,84
4	2,70	4	3,17	4	3,68	4	4,23	4	4,85
5	2,71	5	3,18	5	3,69	5	4,24	5	4,87
6	2,72	6	3,20	6	3,71	6	4,26	6	4,88
7	2,73	7	3,21	7	3,72	7	4,27	7	4,90
8	2,74	8	3,22	8	3,73	8	4,29	8	4,92
9	2,75	9	3,23	9	3,74	9	4,30	9	4,93
49	2,76	**53**	3,25	**57**	3,75	**61**	4,32	**65**	4,95
1	2,77	1	3,26	1	3,76	1	4,33	1	4,97
2	2,78	2	3,27	2	3,78	2	4,35	2	4,98
3	2,79	3	3,28	3	3,80	3	4,36	3	5,00
4	2,80	4	3,29	4	3,81	4	4,37	4	5,02
5	2,81	5	3,30	5	3,82	5	4,39	5	5.04
6	2,83	6	3,31	6	3,84	6	4,40	6	5,05
7	2,84	7	3,33	7	3,85	7	4,42	7	5.07
8	2,86	8	3,34	8	3,87	8	4,44	8	5,09
9	2,87	9	3,35	9	3,88	9	4,46	9	5,11
								66	5,12

ANHANG II.

Zusammenstellung physiologisch-chemischer Untersuchungsmethoden für Uebungszwecke.

Nachweis von organischen Substanzen und Vorprüfungen derselben.

1. Prüfung einer Substanz, z. B. Weinstein, auf organische Bestandtheile durch Erhitzung auf dem Platinbleche nach S. 50 unten.

2. Prüfung einer organischen Substanz auf Stickstoff, Schwefel, Phosphor, Eisen, Jod nach §§ 54—58. Man nehme für die drei ersten Prüfungen Caseïn, für die vierte Hämoglobin oder eingetrocknetes Blut, für die fünfte Schweineschilddrüsen.

Nachweis von Eiweiss, Zucker und Fett.

1. Man stelle eine Eiweisslösung her, indem man das vom Dotter getrennte Hühnereiweiss mit der Scheere zerschneidet, mit Wasser verdünnt und filtrirt, und prüfe diese Lösung nach § 280.

2. Man prüfe eine etwa 2—5 proc. Traubenzuckerlösung nach § 92.

3. a) Man erhitze etwas Fett, z. B. Butter nach Zusatz von gepulvertem Kaliumbisulfat in einem Reagensglase und weise das dabei aus dem Glycerin entstehende Acroleïn durch seinen stechenden Geruch und die Schwarzfärbung, welche ein mit natronlauge- und ammoniakhaltiger Silberlösung getränktes Papier durch die entweichenden Dämpfe erfährt, nach (S. 86 oben u. § 86).

b) Man verseife Fett oder Olivenöl nach § 89, 1 oder 2 und stelle eine Seifenlösung her. Dieselbe schäumt beim Schütteln und giebt auf Zusatz von Bariumchlorid oder Bleiacetat Niederschläge von fettsaurem Barium bezw. Blei, sowie auf Zusatz von Salzsäure Abscheidungen von freien Fettsäuren. Letztere lösen sich in Aether leicht auf.

Untersuchung des Harns.

Darstellungen und Nachweise.

1. Anorganische Salze. Veraschung von etwa 100 ccm nach § 426 und Untersuchung des wässrigen Auszuges nach § 431, des salzsauren nach § 432.

2. Harnstoff. Darstellung nach S. 119 und Nachweis nach § 111, 1, 2 u. 3.

3. Harnsäure. Darstellung nach S. 136 durch Versetzen von etwa 300 ccm Harn mit etwa 20 ccm Salzsäure und Untersuchung der bis zum nächsten Tage abgeschiedenen Krystalle nach S. 140 u. S. 142, 1, 2, 4 u. 5.

4. Kreatinin. Nachweis direct im Harn nach S. 131 u. S. 132, 1 u. 2. Darstellung nach dem S. 432 für die quantitative Bestimmung angegebenen Verfahren als Kreatininchlorzink. Die abgeschiedenen Krystalle werden mikroskopisch untersucht (S. 131) und dann in einem Kölbchen mit etwas Wasser und Bleioxydhydrat gekocht. Das Filtrat, welches freies Kreatinin enthält, wird wieder nach S. 131 u. S. 132, 1, 2, u. 3 geprüft.

5. Aetherschwefelsäure. Nachweis nach S. 417 in etwa 100 ccm Harn.

6. Phenol, Kresol, Brenzcatechin. Man destillirt mindestens 200 ccm Pferdeharn mit 50 ccm conc. (roher) Salzsäure, bis 50—70 ccm übergegangen sind, und untersucht das Destillat und den Rückstand.

Destillat. Man übersättigt mit Natriumcarbonat, destillirt wieder den 4. Theil ab und prüft die übergegangene neutrale Flüssigkeit nach S. 118, 1, 2 u. 3 auf Phenol und Kresol.

Rückstand. Man schüttelt ihn im Scheidetrichter mit dem gleichen Volumen Aether, lässt die wässrige Lösung ab, schüttelt die zurückgebliebene ätherische mit verdünnter Sodalösung, lässt auch diese abfliessen und filtrirt die Aetherlösung durch ein trockenes Filter. Der beim Verdunsten des Aethers bleibende Rückstand wird in wenig Wasser gelöst, die Lösung filtrirt und nach § 190 Schluss auf Brenzcatechin geprüft.

7. Indoxyl. Nachweis nach Obermayer S. 439 im Pferde- und im Menschenharn.

8. Hippursäure. Darstellung aus Pferdeharn nach S. 224. Ein Theil der Krystalle wird nach S. 225 geprüft. Die Hauptmenge wird mit rauchender Salzsäure $^3/_4$ Stunden im Kölbchen über kleiner Flamme gekocht und die Lösung darauf in einer Porzellanschale auf dem Wasserbade verdunstet. Man nimmt den Rückstand mit Petroläther auf, filtrirt und lässt in einem Becherglase verdunsten. Die sich dabei in farblosen Krystallen abscheidende Benzoësäure wird nach S. 223 geprüft.

9. Urobilin. Nachweis nach S. 293.

10. Acetylessigsäure. Nachweis nach § 80. Normale Harne enthalten diese Säure nicht, doch stelle man die Reaction zum Vergleich auch mit normalem Harn an.

11. Aceton. Nachweis nach § 79, vergl. das am Schluss dieses Paragraphen Gesagte. Handelt es sich um etwas grössere Mengen (Acetongeruch des Harns) so verwende man nur etwa 100 ccm und prüfe das erste Destillat.

12. Traubenzucker. Nachweis im diabetischen Harn nach § 92. Alle Proben sind vergleichsweise auch mit normalem Harn anzustellen.

13. Eiweiss. Nachweis im eiweisshaltigen Harn nach § 510. Alle Proben sind vergleichsweise auch mit normalem Harn anzustellen.

14. Harnsteine und Harnsedimente. Untersuchung nach §§ 533 und 534.

Volumetrische Bestimmungen.

Allgemeines über Maassanalyse siehe §§ 13 ff.

1. Säuregrad. Nach § 462.
2. Salzsäure. Nach § 469, 2.
3. Phosphorsäure. Nach §§ 471 u. 472.
4. Eisen. Nach § 468.
5. Stickstoff. Nach § 453, a.
6. Ammoniak. Nach § 475.
7. Harnstoff. Nach § 479 und § 480.
8. Traubenzucker. Im diabetischen Harn nach § 498. In demselben Harn ist die polarimetrische Bestimmung nach § 497 auszuführen.

Allgemeines über Circumpolarisation siehe §§ 29 ff.

Gewichtsanalytische Bestimmungen.

Allgemeines über Gewichtsanalyse siehe §§ 11 u. 12.

1. Calcium und Magnesium. Nach § 467.
2. Schwefelsäure und Aetherschwefelsäure. Nach § 470.
3. Harnsäure. Nach § 484 u. § 485. Siehe die Berichtigung S. 586.
4. Eiweiss im eiweisshaltigen Harn. Nach § 511 u. § 512. In demselben Harn sind annähernde Bestimmungen nach § 515 u. § 516 auszuführen.

Untersuchung der Kuhmilch.

1. Feststellung des specifischen Gewichts der frischen und abgerahmten Milch mit dem Aräometer (§ 22, a) nach § 658.
2. Qualitative Untersuchung nach § 662.
3. Quantitative Bestimmungen
   a) des Gesammtstickstoffs nach § 453, b.
   b) des Gesammtproteïnstoffgehaltes nach § 666 oder § 667.

c) von Caseïn, Albumin + Globulin, Milchzucker und Fett nach § 668.
d) des Fettes nach § 671, a, b u. c.
e) des Milchzuckers nach § 672.

Untersuchung der Rindergalle.

1. Nachweis der Gallensäuren. Man prüft eine Lösung von etwas Galle in Wasser mit der Pettenkofer'schen Reaction. S. 265, 3.

2. Nachweis des Gallenfarbstoffs. Nach § 644.

3. Darstellung von Gallensäuren, Nachweis von Lecithin, Cholesterin und anorganischen Salzen. Man dampft etwa 300 ccm Galle auf dem Wasserbade zum dünnen Syrup ein, zerreibt ihn mit 95 proc. Alkohol zu dünnflüssiger Masse, filtrirt durch aschefreies Filter in einen geräumigen Kolben, wäscht mit 95 proc. Alkohol aus und untersucht Filtrat und Rückstand.

Filtrat. Es wird durch Abdestilliren des Alkohols bis zum dünnen Syrup eingeengt und mit grossem Ueberschuss von Aether übergossen. Man schüttelt ordentlich durch, verschliesst den Kolben und lässt zur Krystallisation stehen. Die von den Krystallen abgegossene ätherische Lösung untersucht man nach § 642 auf Lecithin und Cholesterin. Die Krystalle, gallensaure Natronsalze (Plattner's krystallisirte Galle), verwandelt man nach § 246, 1 in die freien Gallensäuren. Prüfung der Natronsalze oder der freien Säuren mit der Pettenkofer'schen Probe. S. 265, 3.

Rückstand. Man wäscht ihn auf dem Filter zunächst mit verdünnter Essigsäure, dann mit verdünnter Salzsäure, fängt beide Filtrate getrennt auf und untersucht das erste nach § 432 auf Calcium, Magnesium und Phosphorsäure, das zweite nach § 41 mit Ferro- u. Rhodankalium auf Eisen.

4. Abscheidung und Nachweis des Gallenschleims nach § 640.

5. Nachweis von Gallenfarbstoff im Harn nach § 520.

6. Untersuchung der Gallensteine nach § 653.

Untersuchung seröser Flüssigkeiten.

1. Nachweis der Proteïnstoffe nach §§ 542 ff.

2. Nachweis des Traubenzuckers. Man entfernt die Proteïnstoffe nach Hofmeister oder nach Abeles (S. 479) und prüft das eingeengte Filtrat nach § 92.

3. Bestimmung des Trockenrückstandes nach § 540.

4. Bestimmung der gerinnbaren Eiweissstoffe nach § 546.

5. Quantitative Analyse nach § 560.

Untersuchung des Blutes.

1. Untersuchung des Blutfarbstoffes nach § 577, 1—7. Die spectroskopische Prüfung geschieht am besten mit dem Browning'schen Taschenspectroskop (§ 26) in vierseitigen Flaschen oder Glaskästchen mit planparallelen Wandungen.

2. Teichmann'sche Häminprobe nach S. 494.

3. Darstellung von Oxyhaemoglobinkrystallen aus Pferdeblut nach § 356.

4. Bestimmung des Eisengehaltes nach §§ 435 u. 436.

5. Nachweis von Blut im Harn nach § 521.

Untersuchung des Speichels.

1. Prüfung auf diastatisches Ferment nach § 421.

2. Prüfung auf Sulfocyansäure nach § 605.

3. Prüfung auf salpetrige Säure nach § 606.

Untersuchung der Magenverdauung und des Mageninhaltes.

1. Herstellung eines künstlichen Magensaftes nach § 411.

2. Prüfung desselben auf Labferment nach § 419.

3. Anstellung eines Verdauungsversuchs und Untersuchung der peptischen Verdauungsproducte nach § 412.

4. Prüfung auf freie Salzsäure nach § 617

a) in der zur Herstellung des künstlichen Magensaftes benutzten verdünnten Salzsäure (4—8 ccm rauchende Salzsäure auf 1 Liter Wasser),

b) in dem Verdauungsgemisch am Schluss der Verdauung.

5. Prüfung auf Milchsäure in einer sehr verdünnten Milchsäurelösung mit dem Uffelmann'schen Reagens nach § 618.

6. Prüfung von Mageninhalt auf freie Salzsäure nach § 617, auf Milchsäure nach § 618, auf Pepsin, Labferment und Steapsin nach §§ 625—627.

Untersuchung der Pancreasverdauung.

1. Darstellung einer pancreatischen Verdauungsflüssigkeit nach § 414.

2. Prüfung derselben auf diastatisches Ferment nach § 421.

3. Anstellung eines tryptischen Verdauungsversuchs und Untersuchung der Verdauungsproducte nach § 415.

Untersuchung der Organe.

1. Zerkleinerung nach § 722.

2. Nachweis der Proteïnstoffe nach § 725, b.

3. Isolirung von Kreatin und Nucleïnbasen nach § 727.

4. Isolirung von Kreatinin und Milchsäure nach § 728.

5. Bestimmung des Trockenrückstandes und Gesammtstickstoffs nach § 732.

6. Bestimmung der ätherlöslichen Stoffe nach § 735, 1.

Für 2—6 benutzt man zweckmässig Muskeln.

7. Darstellung und Nachweis von Glykogen aus Leber nach § 100.

8. Darstellung der Nucleïnsäure aus Thymusdrüse nach § 377, 2. Man prüfe ihre Eigenschaften nach S. 364. Der Nachweis der Nucleïnbasen geschieht durch Kochen mit Salzsäure, Uebersättigen mit Ammoniak und Ausfällen durch Zufügen von Silbernitrat; der Nachweis des Phosphors nach § 56; der Nachweis der Pentose nach S. 112, 2 Schluss.

Untersuchung der Fäces.

1. Nachweis von aromatischen Substanzen, Koprosterin u. s. w. nach § 690.

2. Nachweis von Urobilin nach § 693.

3. Herstellung lufttrockener Fäces nach § 704.

4. Bestimmung
   a) des Trockenrückstandes nach § 705,
   b) des Gesammtstickstoffs, des Gesammtphosphors und des Gesammteisens nach § 706,
   c) der ätherlöslichen Substanzen („Fettbestimmung“) nach § 707.

Untersuchung eines Fäulnissgemisches.

Dieselbe geschieht nach § 218.

Alphabetisches Inhaltsverzeichniss.

A.

B.

C.

D

E.

F.

H.

I.

J.

K.

L.

M.

N.

O.

P.

Q.

R.

S.

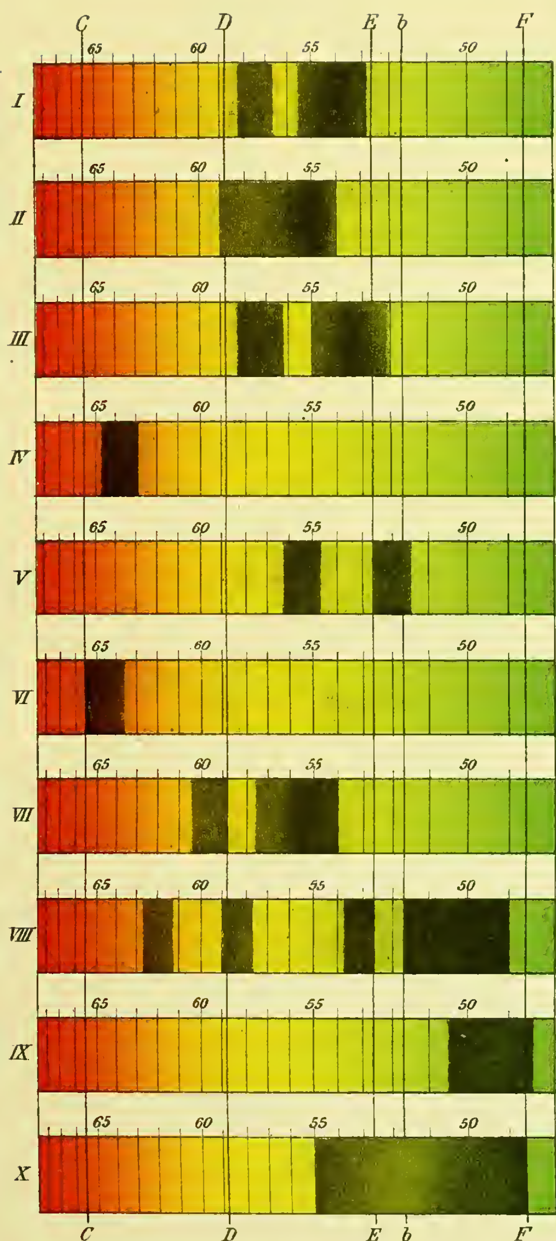
V.

W.

X.

Z.

Druck von L. Schumacher in Berlin.



Oxyhaemoglobin (S. 352).

Haemoglobin (S. 353).

Kohlenoxydhaemoglobin (S. 354).

Methaemoglobin (S. 356). Ueber weitere Streifen siehe a. a. O.

Haemochromogen in alkalischer Lösung (S. 276).

Haematin in schwefelsäurehaltiger alkoholischer Lösung (S. 278). Ueber weitere Streifen siehe a. a. O.

Haematoporphyrin in saurer Lösung (S. 284).

Haematoporphyrin in alkalischer Lösung (S. 284).

Urobilin (S. 293).

Uroerythrin (S. 294).